

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

SUR L'HÉRÉDITÉ DE L'IMMUNITÉ ACQUISE

(Contribution expérimentale.)

PAR L. VAILLARD

Médecin principal de l'Armée, Professeur au Val-de-Grâce.

De nombreux exemples recueillis chez l'homme et l'animal démontrent que les descendants d'une mère immunisée contre une maladie infectieuse peuvent naître réfractaires à la même infection. Le fait s'observe dans les deux circonstances suivantes :

1^o *Au cours de la gestation, la mère contracte une maladie qui confère l'immunité, ou bien elle est soumise à une vaccination préventive ; le descendant partage alors l'immunité acquise par le générateur.* Ainsi on a constaté que l'enfant né d'une varioleuse, même lorsqu'il vient au monde sans trace visible d'éruption, se montre réfractaire au virus de la variole ou de la vaccine. De même une femme vaccinée avec succès au cours de la grossesse donne fréquemment naissance à un enfant réfractaire à la vaccine (Burckard, Chambrelent, Wolff). L'immunité des agneaux nés de brebis vaccinées contre le charbon pendant la gestation a été signalée par Chauveau. Des faits semblables ont été rapportés par Rickert, Ackerman, Rohloff à propos de la clavelée ; par Arloing, Cornevin et Thomas, Kitasato pour le charbon symptomatique ;

2^o *L'immunisation de la mère remonte à une époque plus ou moins éloignée de la conception, et résulte d'une vaccination microbienne ou chimique pratiquée dans un but prophylactique ou expérimental ; les*

dernières injections vaccinantes sont notoirement antérieures à la fécondation. Comme précédemment les rejetons peuvent naître réfractaires à la maladie contre laquelle la mère est préservée, ainsi que l'établissent les observations fournies par les animaux de laboratoire.

Ces deux ordres de faits doivent être distingués.

Lorsque l'immunisation de la mère s'effectue pendant la grossesse, qu'il s'agisse d'une infection naturelle ou d'une vaccination microbienne, le fœtus participe réellement à la maladie du générateur. Cette participation est complète si les microbes ont traversé le placenta; elle est partielle, et néanmoins efficace, si le fœtus a reçu, non le virus, mais les produits solubles élaborés dans les tissus maternels. On conçoit que, dans le cas d'une vaccination chimique, les substances solubles injectées à la mère dialysent à travers le placenta et arrivent jusqu'à son produit. De telles circonstances n'ont rien de commun avec ce que l'on doit entendre sous le nom de transmission héréditaire de l'immunité; elles traduisent simplement la vaccination simultanée de la mère et du fœtus.

Les cas du second groupe se présentent au contraire avec toutes les apparences d'un phénomène d'hérédité: la mère communique au rejeton une propriété qu'elle a acquise avant la conception. C'est uniquement à leur propos que doit se poser la question d'une transmission héréditaire; ce sont aussi les seuls qui seront envisagés dans ce travail.

S'agit-il en l'espèce d'une hérédité véritable? Comment et dans quelles conditions s'opère ce transfert de l'immunité acquise? Des opinions divergentes ayant été émises, il convient d'en rappeler brièvement la succession.

On a pensé de prime abord que la transmission au fœtus de l'état réfractaire acquis par la mère rentrait dans les lois de l'hérédité physiologique et devait s'interpréter comme cette dernière. « Non seulement la mère, écrit Duclaux¹, mais le père peut transmettre à ses enfants ses facultés intellectuelles, ses qualités morales, ses ressemblances physiques, même ses difformités acquises, comme dans les curieux cobayes de Brown-Sequard qui se léguent de génération en génération la traduction des lésions anatomiques ou des opérations chirurgicales subies.

1. DUCLAUX, *Le Microbe et la Maladie*, p. 192.

La transmission de l'immunité n'a pas besoin d'un autre mécanisme. » — Arloing¹ exprime la même opinion d'une manière plus explicite. « Pour assurer la pérennité de l'immunité acquise, il s'établit sous l'influence des sécrétions microbiennes une modification des éléments anatomiques capable de les faire triompher des agents virulents. L'ovule en tant que cellule intégrante de l'organisme ne fait pas exception. Chez lui, comme chez tout autre élément, une propriété nouvelle s'est fixée dans le protoplasma ; cette propriété devenue plastique en quelque sorte se retrouve dans toutes les cellules qui naîtront de l'ovule. L'embryon, le foetus, le jeune sujet enfin seront donc formés de cellules résistantes, accoutumées aux microbes et aux modificateurs chimiques qu'ils sécrètent. »

Arloing accorde volontiers à l'ovule mâle le même privilège qu'à l'ovule femelle et suppose qu'il apporte à la cellule engendrée une substance vaccinée qui se répartira dans toutes les cellules du nouvel être ; « ce baptême séminal donnera à l'ensemble une immunité indéniable, quoique plus faible et plus irrégulière qu'à la suite de l'hérédité maternelle ». La transmission de l'immunité accuserait donc un fait d'hérédité cellulaire.

Bien différente est l'opinion d'Ehrlich², le premier qui ait demandé à l'expérimentation la solution de ce problème biologique. Ehrlich étudie la transmission de l'immunité chez les animaux vaccinés contre certains poisons végétaux (abrine, ricine, robine) ou microbiens (tétanos), et à la suite de recherches, aussi remarquables par leur précision que par leur ingéniosité, il arrive aux conclusions suivantes :

Le père ne communique jamais l'immunité à ses descendants ; la mère seule possède cette propriété.

L'immunité des nouveau-nés n'a qu'une durée très passagère (3 à 4 semaines), et ne se transmet pas de génération en génération. Elle résulte uniquement de l'apport passif de la substance antitoxique contenue dans l'organisme maternel : de là sa disparition après l'élimination de cette substance.

Ehrlich en a déduit que l'ovule et le spermatozoïde sont

1. ARLOING, *Les Virus*, p. 284.

2. EHRLICH, De l'immunité par l'hérédité et par l'allaitement. *Zeitsch. f. Hyg.*, 1892. B. XII.

incapables de transmettre l'immunité. Il ne saurait donc être question d'une immunité héréditaire au sens véritable du mot ; comme les autres propriétés acquises, l'immunité ne se transmet pas.

C'est sur le terrain de l'expérimentation que Charrin et Gley¹ se sont placés pour infirmer les principales conclusions d'Ehrlich et étayer la théorie cellulaire de l'immunité héréditaire. « Quand, disent-ils, on accouple des lapins, le mâle seul étant vacciné contre le bacille pyocyanique, on peut voir dans des cas assez rares l'immunité transmise aux descendants. Si cette transmission est inconstante, cette immunité des descendants est le plus souvent incomplète, peu profonde ; néanmoins il y a là un attribut héréditaire du fait de cet élément mâle. » Et même des femelles normales fécondées par un mâle immunisé recueilleraient de ce fait un indéniable degré de résistance à l'infection, résistance dont la cellule paternelle serait le *primum movens*. L'immunité serait donc réellement héréditaire, et cette hérédité trouverait sa raison dans la transmission aux cellules sexuelles d'un attribut acquis par les cellules somatiques.

Tizzoni et Centanni² ont également conclu de leurs recherches sur la rage et le tétanos que le mâle peut transmettre l'immunité ; celle-ci serait même, du moins pour le tétanos, plus durable que l'immunité dérivant de la mère.

Dans un mémoire en collaboration avec Hubener, Ehrlich³ a récemment fait une critique rigoureuse des travaux de Charrin et Gley, Tizzoni et Centanni, et, par de nouvelles preuves empruntées à l'expérimentation sur le tétanos, il a confirmé ses précédentes conclusions, surtout en ce qui concerne l'incapacité du père à transmettre l'immunité⁴.

En résumé, si l'aptitude de la mère à transmettre l'immunité ne souffre aucune contestation, le rôle du père est l'objet d'un

1. CHARRIN et GLEY, *Comptes rendus*, Septembre 1893.

2. TIZZONI et CENTANNI, *Centralblatt. f. Bakter.* T. XIII, n° 3. *Deutsche med. Woch.* 1892.

3. EHRЛИCH et HUBENER, Sur l'hérédité de l'immunité contre le tétanos, *Zeitsch. f. Hyg.* 1894.

4. Ce mémoire était déjà écrit lorsque nous avons eu connaissance d'un travail de E. Wernicke sur « l'hérédité de l'immunité expérimentalement conférée contre la diphtérie chez les cobayes ». *Inst. d'hyg. de l'Université de Berlin*, 1893. Les conclusions de l'auteur sont l'exacte confirmation de celles qui ont été formulées par Ehrlich.

profond désaccord : Ehrlich le dénie pour ne l'avoir jamais constaté; Duclaux, Arloing, l'admettent théoriquement; Charrin et Gley, Tizzoni et Centanni le considèrent comme expérimentalement démontré. De là, des opinions inconciliables sur la nature même du fait biologique. Pour les uns, l'immunité est réellement héréditaire, et sa transmission résulte de la fixation dans les cellules sexuelles d'une propriété acquise par l'ascendant. Pour Ehrlich, il n'existe pas d'immunité héréditaire; celle que l'on constate chez les nouveau-nés relève d'un simple incident humorale, l'emprunt aux liquides maternels d'une substance dont l'élimination, prompte à se faire, explique la très courte durée de cette immunité.

En raison de ces divergences, il était opportun de faire connaître les recherches expérimentales que, depuis plusieurs années, nous avons poursuivies sur le sujet en litige; ces documents auront peut-être un intérêt à l'heure où l'étude de l'hérédité semble devenir une question d'actualité.

II

Nos recherches ont porté sur les animaux immunisés contre le téstanos, le choléra, le charbon et la maladie produite par le vibrion avicide. Deux espèces animales ont été mises en expérience : le cobaye et le lapin pour le téstanos; le lapin pour le charbon; le cobaye pour le choléra et le vibrion avicide.

Les procédés d'immunisation employés sont ceux qui servent journallement dans les laboratoires pour la vaccination de ces rongeurs contre les maladies indiquées.

a). — *Tétanos* : injections progressivement croissantes de toxine modifiée par l'iode, puis de toxine active.

b). — *Charbon* : procédé décrit par Chamberland et Roux.

c). — *Choléra* : injections progressivement croissantes de cultures chauffées à 100°.

d). — *Vibrion avicide* : inoculation sous-cutanée de doses graduées de cultures virulentes.

Dans un groupe de faits (téstanos, choléra) la vaccination a donc été obtenue par les produits solubles des microbes, et dans l'autre (charbon, vibrion avicide) par l'action des microbes vivants.

Les animaux n'ont été accouplés qu'après avoir acquis un très haut degré d'immunisation.

Du rôle du père dans la transmission de l'immunité. — A chaque type d'infection était attribué un lot de mâles dont l'immunité fortement accusée était entretenue avec soin. Ces mâles ont été accouplés aussi fréquemment que possible, et toujours avec des femelles normales, ce qui a permis d'obtenir de nombreuses lignées. Les animaux issus de ces accouplements ont été éprouvés à des époques variables après leur naissance, 5, 15, 20 jours, 1 ou 2 mois, avec la dose de toxine (tétanos) ou de virus strictement suffisante pour déterminer la mort des témoins.

Les résultats de ces essais multipliés se résument très simplement.

Quelle que soit l'immunisation envisagée, jamais les animaux issus d'un père hypervacciné et d'une mère normale n'ont présenté un degré quelconque de résistance, si faible soit-il.

Plusieurs fois les mères ont été soumises à l'épreuve en même temps que leurs produits; elles se sont comportées comme ces derniers.

La concordance de ces résultats avec ceux d'Ehrlich paraît bien indiquer que l'inaptitude du père à transmettre l'immunité représente une vérité commune, sinon générale. Il importe de signaler que les mâles en expérience étaient tous hyper-immunisés par une vaccination lente et prolongée; l'invariabilité des constatations négatives n'en contraste que davantage avec l'observation de Charrin et Gley sur l'immunité contre le bacille pyocyanique. Les 8 mâles dont parlent ces auteurs sont faiblement immunisés (leur vaccination a consisté dans l'inoculation, en cinq jours, de 1 c. c. de culture, puis de deux doses successives de 5 c. c. de toxine); ces animaux sont éprouvés dans le cours du sixième mois, deux succombent. Malgré ces conditions moins favorables que les précédentes, Charrin et Gley obtiennent un résultat positif. Faut-il donc croire que l'immunisation contre le bacille pyocyanique se singularise par une particularité étrangère aux autres immunisations étudiées jusqu'ici? A vrai dire, au témoignage même des auteurs, cette transmission d'origine paternelle est un fait rare, « inconstant, presque inouï »; en outre, l'immunité des descendants est incomplète, peu marquée : sur 7 lapins de la même portée, 5 succombent à l'épreuve, 2 survi-

vent. Aussi est-on conduit à se demander si la survie des deux animaux jugés réfractaires ne s'expliquerait point par cette inégalité naturelle de résistance que l'on rencontre chez des animaux de même apparence à l'égard des doses faibles d'un virus ou d'un poison. Il semblera tout au moins qu'une expérience unique se présentant dans ces conditions ne suffit pas à imposer la réalité d'un fait que d'autres faits nombreux contredisent.

Du rôle de la mère. — Caractères généraux de l'immunité qu'elle transmet. — De nombreuses femelles hypervaccinées contre le tétanos (cobayes et lapins), le charbon (lapins), le choléra et le vibrion avicide (cobayes) ont été accouplées avec des mâles normaux; toutes ont invariablement communiqué à leur descendance l'immunité dont elles étaient pourvues. Cette transmission ne se limite pas à la portée qui suit la vaccination; elle s'observe sur les portées subséquentes, longtemps même après la cessation des injections vaccinantes, c'est-à-dire tant que persiste l'immunité de la mère¹. L'expérimentation sur le tétanos démontre combien peut être élevé le degré de l'immunité que reçoivent les rejetons: des cobayes âgés de 3 à 15 jours ont supporté des doses de toxine 200 à 400 fois supérieures à la dose mortelle. Mais si accusée qu'elle soit, cette immunité paraît manifestement inférieure à celle du générateur.

L'immunité n'est pas toujours égale chez les animaux d'une même portée; elle peut même faire défaut chez un ou plusieurs d'entre eux. Charrin et Gley ont signalé le fait; nous l'avons

1. Un cobaye femelle est très fortement immunisé contre le tétanos en janvier et février 1891; à partir de cette date il n'est plus fait d'injections vaccinantes. De mai 1891 à mai 1892, cette femelle a fourni quatre portées.

4 ^e Mai 1891.....	4 petits.....	tous ont une forte immunité.
2 ^e Août 1891.....	4 petits.....	tous ont une forte immunité.
3 ^e Décembre 1891.....	4 petits.....	tous ont une forte immunité.
4 ^e Mai 1892.....	3 petits.....	tous ont l'immunité, mais moins prononcée que les précédents; l'inoculation de la dose de toxine 3 fois supérieure à la dose mortelle, a déterminé un léger tétanos.

Une observation semblable a été faite à propos du charbon. Une lapine immunisée a eu deux portées au cours de l'année; les petits de l'une et de l'autre étaient réfractaires à l'infection.

plusieurs fois constaté chez les descendants de mères immunisées contre le téтанос et le charbon.

a). *Charbon*. — Une lapine fortement immunisée met bas 7 petits le 15 avril 1894. Le 22 mai, tous les jeunes sont éprouvés par l'inoculation sous-cutanée de 1/5 c. c. d'une culture en bouillon, en même temps que deux témoins.

Les deux témoins meurent le 24 au matin. *Un des jeunes lapins issus de mère réfractaire meurt charbonneux le 25; les autres restent en bonne santé.*

b). *Tétanos*. — Une lapine hypervaccinée met bas 6 petits le 7 mai 1891. Deux d'entre eux sont éprouvés à l'âge de 1 mois et résistent. Les quatre autres sont éprouvés à l'âge de 2 mois avec une dose égale de toxine : deux résistent et deux meurent tétaniques.

De même lorsqu'on éprouve le même jour et avec la même dose de toxine toute une portée de cobayes comprenant 3 ou 4 petits, on en trouve parfois qui résistent incomplètement ou même succombent, alors que les autres ne présentent aucun symptôme tétanique.

Cette différence, et surtout cette absence d'immunisation chez quelques animaux de la même portée représentent un fait assez singulier. Tous les fœtus ne reçoivent-ils pas *in utero* ce quelque chose qui confère l'immunité, ou bien l'ayant reçu, l'ont-ils rapidement perdu après la naissance ? La première hypothèse n'est pas sans obscurité; la seconde cadre mieux avec nos connaissances sur les influences capables de diminuer ou de supprimer l'immunité chez celui qui en est pourvu.

Ehrlich a fait ressortir le caractère fugace de l'immunité que transmettent les souris vaccinées contre les toxines végétales ; sa durée n'excède pas le troisième mois. La même observation s'applique à diverses autres immunisations.

L'immunité n'est jamais durable chez les descendants de mères vaccinées contre le téтанос. Très prononcée au cours des deux premiers mois qui suivent la naissance, elle décline ensuite pour disparaître du troisième au quatrième mois, rarement demeure-t-elle encore appréciable après ce délai. Et tandis que les jeunes ont déjà perdu leur résistance, la mère supporte sans dommage des doses élevées de toxine.

Il en est de même pour le charbon.

Une lapine immunisée contre le charbon met bas 6 petits le 15 avril 1894. Ces animaux sont éprouvés à l'âge de 2 mois : 5 résistent, 1 succombe. Ceux qui survivent sont inoculés de nouveau deux mois après : tous meurent charbonneux avec un léger retard sur le témoin.

La même femelle met bas le 22 juillet 5 petits dont 2 seulement survivent. Ceux-ci sont éprouvés à l'âge de 20 jours et résistent. Ultérieurement ils sont soumis à une nouvelle épreuve, l'un à l'âge de 2 mois et demi, l'autre à l'âge de 5 mois, et tous deux meurent charbonneux.

L'exemple est d'autant plus significatif que, du fait de la première épreuve, l'immunité de ces animaux avait pu se trouver renforcée; elle n'en avait pas moins disparu du quatrième au cinquième mois.

Des faits identiques s'observent à propos de l'immunité contre le vibrion avicide.

Ainsi s'explique, comme le signale Ehrlich, que l'immunité dite héréditaire ne se transmette pas d'une génération à l'autre. Cependant, dans un cas unique il est vrai, nous avons constaté un degré marqué de résistance chez un cobaye de deuxième génération.

Un cobaye femelle, *né en août 1891 d'une mère immunisée contre le tétanos*, met bas le 30 novembre 1891 deux petits dont un seul survit. Ce jeune cobaye est éprouvé à l'âge de un mois par une dose de toxine six fois supérieure à celle qui tue le témoin; il présente un tétanos léger.

On devait se demander si la vaccination de la mère au cours de la gestation, c'est-à-dire celle du fœtus pendant son développement, ne rendrait pas plus persistante l'immunité du rejeton. Ehrlich vise cette question et cite une expérience où, après avoir continué à nourrir une souris avec de la ricine pendant la gestation, il vit les descendants conserver encore après quatre mois un haut degré de résistance à l'intoxication; mais l'auteur s'abstient de conclure de cette unique observation. Les expériences propres à élucider le fait sont difficiles à réaliser, parce que les femelles dont l'immunisation est commencée ou poursuivie d'une manière un peu active, pendant la gestation, avortent très ordinairement. Cependant, sur deux lapines vaccinées dans ces conditions contre le tétanos, il nous a été permis de constater que l'immunité des jeunes n'était guère plus durable que précédemment; elle prenait fin du troisième au cinquième mois.

a. — La vaccination d'un lapin femelle est commencée avant la fécondation et continuée pendant la gestation. Une partie de sa portée est éprouvée 1 et 2 mois après la naissance; à ce moment l'immunité des jeunes est complète. L'autre partie est éprouvée du 5^e au 6^e mois avec la dose minima de toxine; les animaux succombent alors que la mère résiste.

b. — La vaccination de la mère est commencée avant la fécondation et poursuivie pendant la gestation. L'immunité des petits est déjà considérablement affaiblie le 67^e jour après la naissance.

La courte durée semble donc être l'attribut ordinaire de l'immunité acquise in utero. Quelle différence avec celle que les animaux contractent après la naissance, même au début de la vie! Dans les expériences de Rickert sur la clavelée, les agneaux nés de mères vaccinées pendant la gestation se montrèrent réfractaires à l'âge de 30 ou 40 jours; éprouvés trois ans plus tard, tous contractèrent le claveau, tandis que des agneaux de même âge, issus de mères normales, mais vaccinés après la naissance, conservaient encore leur résistance au bout du même laps de temps.

Pour expliquer cette fragilité de l'immunité acquise *in utero*, Ehrlich suppose que les tissus de l'embryon sont beaucoup moins sensibles que ceux de la mère aux produits microbiens. « Les expériences de Schreiber sur l'absence de toute réaction des nouveau-nés à la tuberculine, même à doses phénoménales, montrent, dit-il, que l'irritabilité de l'embryon vis-à-vis des produits microbiens peut être toute différente et beaucoup moindre que celle des organismes développés. Or, l'immunité résulte de la réaction du corps contre ces produits; du moment que l'irritabilité spécifique fait défaut, son effet, c'est-à-dire l'immunisation, manquera également chez l'embryon, bien que le même agent qui immunise la mère circule dans ses tissus. » Cette hypothèse rend assez bien compte du fait constaté.

III

GENÈSE ET NATURE DE L'IMMUNITÉ DITE HÉRÉDITAIRE EXAMEN DES THÉORIES ÉMISES A CE SUJET

A. — *Théorie d'Ehrlich.*

Ehrlich distingue deux sortes d'immunité. L'une, *active*, stable et persistante, traduit l'état d'un organisme qui est devenu apte à produire une substance antitoxique ou bactéricide; c'est celle que la vaccination provoque chez la mère. L'autre, *passagère*, résulte de l'*introduction* dans l'organisme d'une substance antitoxique ou bactéricide; le type en est fourni par la résistance transitoire que communiquent aux animaux l'injection

d'un sérum antitoxique. Cette deuxième forme d'immunité est, d'après Ehrlich, la seule qui appartienne aux descendants d'une mère vaccinée. Son mécanisme se résume dès lors entièrement dans l'apport passif au rejeton des substances défensives préparées par la mère, apport passif qui commence *in utero* et se poursuit après la naissance par l'absorption de l'antitoxine contenue dans le lait maternel. Cette dernière notion est d'un vif intérêt; il ne sera pas inutile de rappeler comment et sur quels faits Ehrlich a été conduit à l'établir.

Partant de l'hypothèse que les descendants d'un animal vacciné contre la ricine doivent l'état réfractaire à l'antidote maternel, cet auteur fut frappé de l'écart qui existe entre la durée habituelle de leur immunité (5 à 8 semaines) et la durée toujours moindre de l'immunité produite par l'injection du sérum antitoxique (34 à 39 jours). Aussi pensa-t-il que la provision d'antiricine reçue *in utero* ne suffisait pas à prolonger jusqu'à son terme ordinaire l'immunité du nouveau-né et que cet apport initial devait être renouvelé après la naissance. Le lait lui parut être le seul véhicule admissible de cette nouvelle dose d'antidote; de là ses expériences si ingénieuses sur les échanges de nourrices.

Ehrlich féconde simultanément des souris normales et des souris immunisées contre l'abrine ou la ricine, puis, après la parturition, substitue une portée à l'autre; la portée normale est ainsi nourrie par une souris vaccinée, et inversement. Il constate alors que les petits issus de la mère normale acquièrent, du fait de l'allaitement par la souris vaccinée, une immunité très prononcée, leur permettant de supporter une dose de poison 11 à 40 fois supérieure à la quantité mortelle, tandis que les rejetons de la mère immunisée, nourris par une mère normale, perdent un degré notable de leur résistance. Le lait de la mère vaccinée apporte donc de l'antidote au nourrisson, et c'est l'influence de l'allaitement qui prolonge la durée de l'état réfractaire.

A ces expériences s'en ajoutent d'autres sur le téтанos et le rouget. Une souris *normale*, qui a mis bas depuis 10 jours, reçoit du sérum provenant d'un lapin immunisé contre le tétanos; 10 jours après, les petits résistent à des doses élevées de toxine aussi bien qu'à l'inoculation du virus. Une souris nourrice est immunisée contre le rouget par l'inoculation de cultures faibles; 21 jours plus tard la mère et les petits sont éprouvés: tous

résistent, tandis que les témoins meurent le troisième jour.

Ehrlich en a déduit que des deux facteurs en jeu dans la genèse de l'immunité héréditaire, saturation fœtale et immunisation par l'allaitement, le second joue un rôle beaucoup plus grand que le premier. Sa part est si marquée et son efficacité si prompte que, pour immuniser des souris contre le tétanos, il suffit de les faire allaiter pendant 72 ou 48 heures par une mère à laquelle on a injecté du sérum anti-tétanique.

Cette théorie de l'immunité héréditaire est-elle aussi générale que l'admet son auteur? Pour en juger utilement, il convient d'établir des catégories dans les faits, car tous ne sont pas identiques.

Envisageons d'abord le groupe des cas plus particulièrement étudiés par Ehrlich, dans lesquels l'immunisation contre la maladie détermine la formation d'une substance antitoxique. Le tétanos en est le type; il peut aussi servir de critérium.

Le sang des animaux issus d'une mère immunisée contre le tétanos est-il antitoxique? — Ehrlich l'admet implicitement, sans en fournir la preuve. Nous avons plusieurs fois examiné à ce point de vue le sang de jeunes lapins nés de mères vaccinées et nourris, soit par ces dernières, soit par des femelles normales. Cette recherche a été faite vers l'âge de 2 mois, avant l'épreuve de l'immunité, en prenant comme mesure de la propriété antitoxique la proportion de sérum nécessaire pour rendre inoffensive une quantité déterminée de toxine tétanique.

Le plus souvent le sang de ces jeunes lapins a présenté un pouvoir antitoxique évident, parfois même très marqué, mais toujours de beaucoup inférieur à celui du sang maternel.

Quelquefois cette propriété était nulle, ou si faible qu'on devait douter de son existence; mais alors il suffisait de procéder à l'épreuve des animaux (injection de 1 c. c. de toxine), pour lui donner aussitôt une haute accentuation¹.

Dans un cas, unique il est vrai, le sang présentait encore

1. Ce fait est analogue à celui que l'on observe chez les lapins immunisés par des inoculations, sous la peau de la queue, de faibles quantités de spores tétaniques additionnées d'acide lactique. Après 4 ou 5 injections de ce genre, les animaux résistent aux doses de toxine qui tuent les témoins. Avant l'épreuve, leur sang ne présente presque jamais de propriété antitoxique appréciable; après l'épreuve, cette propriété devient très accusée: il a suffi d'une injection modérée de toxine pour la faire apparaître.

six mois après la naissance un pouvoir antitoxique évident, mais très modéré ; l'animal qui le fournissait succomba néanmoins à l'inoculation d'une dose moyenne de toxine.

L'antitoxicité du sang est donc fréquente chez les lapins issus de mères vaccinées, mais elle n'est pas constante. D'autre part des lapins dont le sérum ne semble pas antitoxique résistent au poison tétanique ; d'autres dont le sérum est légèrement antitoxique succombent sous l'action de faibles doses. Il en découle apparemment que le *pouvoir antitoxique des humeurs ne représente pas la condition essentielle de l'immunité des rejetons, puisqu'il peut faire défaut chez des sujets reconnus réfractaires ou exister chez d'autres qui ne le sont pas.*

Quelle est la part de l'allaitement dans l'immunisation des nouveau-nés ? — Son rôle serait prépondérant d'après Ehrlich. Les expériences sur lesquelles est basée cette opinion sembleront décisives ; mais elles ont porté uniquement sur la souris et l'on devait se demander si les résultats ainsi acquis s'appliquent sans distinction à toutes les espèces animales.

Nos recherches de contrôle ont visé exclusivement le tétonas.

Le passage de l'antitoxine tétanique dans le lait des femelles immunisées est un fait vrai, constant et facile à vérifier sur toutes les espèces animales, souris, cobaye, lapin, etc.

Il suffit, en outre, comme l'a dit Ehrlich, d'injecter du sérum antitoxique à une *souris* normale pour conférer l'immunité aux petits qu'elle allaite. L'expérience est saisissante.

a). — Une souris met bas 5 petits le 11 avril 1892. Le 6^e jour après la parturition, on commence à lui injecter du sérum de lapin immunisé contre le tétonas ; ces injections sont faites pendant 8 jours consécutifs, à raison de 1 c. c. par jour. Les jeunes souris sont éprouvées à des âges différents avec des doses de toxine très supérieures à la dose mortelle.

1^{re} souris âge : 30 jours pas de symptômes tétaniques.

2^e — — 36 — — —

3^e — — 44 — — —

4^e — — 68 — tétonas chronique; guérison.

5^e — — 81 — mort.

b). — Une souris met bas 3 petits. Les injections de sérum sont commencées le 10^e jour après la parturition et continuées pendant 6 jours à raison de 1 c. c. par jour. Deux des jeunes souris sont éprouvées à l'âge de 1 mois; aucune d'elles ne prend le tétonas bien que la dose de toxine inoculée ait été très supérieure à la dose mortelle. La troisième est éprouvée à l'âge de 4 mois et ne présente qu'un tétonas léger.

L'allaitement communique donc aux jeunes souris une immunité réelle, et même assez prolongée. Mais ce qui est vrai chez la souris cesse de l'être lorsqu'on s'adresse à d'autres espèces animales.

Cobayes. — 4 femelles normales sont soumises, aussitôt après la parturition, à des injections journalières d'un sérum antitoxique dont l'activité est considérable¹; elles en reçoivent, durant l'allaitement, de 43 à 50 c. c. Dès la première injection le lait se montre très antitoxique; il le devient encore plus par la suite, et cependant l'allaitement ne communique aucune apparence d'immunité ou de résistance aux jeunes cobayes. Ceux-ci sont éprouvés à des périodes différentes, 9, 10, 19, 20, 23, 24 jours après la naissance, avec des doses faibles de toxine; tous prennent le tétnos exactement comme les témoins et succombent dans les mêmes délais.

Renouvelons l'expérience d'Ehrlich qui consiste à faire allaiter par une mère vaccinée les petits nés d'une femelle normale et *vice versa*; les résultats ne variant pas, il suffira de citer une des expériences faites à ce sujet.

Un cobaye femelle, très fortement vacciné contre le tétnos, met bas 4 petits le 21 juillet 1892, en même temps qu'une femelle normale. Deux petits sont enlevés à cette dernière et confiés à la femelle immunisée qui les nourrit. En échange, un des rejetons de la femelle immunisée est donné à la femelle normale. Ainsi la femelle immunisée allaite 3 cobayes issus d'elle et 2 petits de la mère normale; celle-ci nourrit un des rejetons de la mère vaccinée.

Tous ces jeunes cobayes sont éprouvés simultanément à l'âge de 24 jours (moment où l'allaitement prend fin), avec des doses différentes de la même toxine. Les résultats de l'épreuve ont été les suivants:

- a). — *Témoin*.... 1/1000 c. c. de toxine.... mort le 3^e jour.
- b). — *Cobayes nés de mère normale et allaités par la femelle immunisée.*
Cobaye 1 1/800 c. c. toxine mort le 3^e jour.
Cobaye 2 1/500 c. c. toxine mort le 2^e jour.
- c). — *Cobaye né de mère immunisée et allaité par la femelle normale.*
1/15 c. c. toxine..... pas de tétnos.
- d). — *Cobayes nés de mère immunisée et allaités par elle.*
Cobaye 1 1/60 c. c. toxine }
Cobaye 2 1/30 c. c. — } pas de tétnos.
Cobaye 3 1/15 c. c. — }

La conclusion est facile. Les cobayes nés d'une mère normale n'acquièrent aucune résistance appréciable du fait de l'allaitement par une femelle hypervaccinée. Un cobaye né d'une mère vaccinée

1. Un dix-trillionième de c. c. de sérum (0 c. c. 000,000,000,000,0001) immunise 1 gramme de souris contre la dose mortelle de toxine.

ne semble rien perdre de son immunité originelle lorsqu'il est nourri par une femelle normale; sa résistance est égale à celle des animaux de la même portée allaités par leur mère.

Lapin. — Des constatations semblables sont fournies par l'expérimentation sur le lapin.

Une femelle normale met bas 7 petits. Aussitôt après la parturition on lui injecte 10 c. c. d'un sérum dont 1 trillionième de c. c. (0,00 ,000,000,000,001) immunise 1 gramme de souris contre la dose mortelle de toxine; dès le lendemain son lait est devenu très antitoxique. Ultérieurement, la même dose de sérum (10 c. c.) est injectée chaque jour, pendant 14 jours consécutifs, soit, au total, 140 c. c.

Les jeunes lapins sont éprouvés à des périodes différentes, 14, 17, 22, 27 jours après la naissance, avec la dose minima de toxine qui provoque le tétanos chez les lapins de même âge. Tous présentent à l'égard du poison tétanique la même sensibilité que les témoins : des 7 jeunes lapins nourris avec un lait très antitoxique, 5 meurent tétaniques, 2 contractent un tétanos grave, à marche chronique, mais qui se termine par guérison.

L'expérience qui consiste dans l'échange des nourrices conduit aux mêmes résultats.

Une femelle vaccinée contre le tétanos depuis janvier 1894, et dont l'immunisation est très prononcée, met bas le 24 juin, en même temps qu'une femelle normale. Chacune des portées se compose de 6 petits. 3 petits de la femelle immunisée sont échangés avec 3 autres de la portée normale, et pour éviter toute confusion ultérieure, ces animaux sont distingués par une marque indélébile. Ainsi la femelle vaccinée nourrit 3 lapins issus d'elle et 3 lapins de mère normale; la femelle normale nourrit 3 lapins issus d'elle et 3 lapins nés de la mère immunisée.

Les jeunes lapins sont éprouvés à des âges différents : 37, 43, 48 jours après la naissance. Chaque série d'épreuve porte simultanément :

Sur un lapin né de mère normale et nourri par elle (témoin);

— un — — — — par femelle immunisée;

— un lapin né de mère immunisée et nourri par elle;

L'expérience comporte ainsi des termes de comparaison absolument exacts. L'épreuve a été faite avec la dose de toxine strictement suffisante pour déterminer des symptômes tétaniques; les résultats en sont résumés dans le tableau ci-dessous.

	Épreuve le 37 ^e jour.	Épreuve le 43 ^e jour.	Épreuve le 48 ^e jour.
1 ^o Lapin né de mère normale et nourri par elle. — Témoin.	Tétanos chronique. — Guérisson.	Tétanos chronique. — Guérisson.	Tétanos. — Mort.
2 ^o Lapin né de mère normale et nourri par femelle immunisée.	Tétanos chronique. — Guérisson. ¹	Tétanos. — Mort.	Tétanos. — Mort.
3 ^o Lapin né de mère immunisée et nourri par elle.	Pas de symptômes tétniques.	Pas de symptômes tétniques.	Tétanos très léger. — Guérisson.
4 ^o Lapin né de mère immunisée et nourri par femelle normale.	Pas de symptômes tétniques.	Pas de symptômes tétniques.	Tétanos très léger. — Guérisson.

Chez le lapin, comme chez le cobaye, l'allaitement par une femelle immunisée contre le tétanos ne confère aucune résistance appréciable aux petits issus d'une mère normale. D'autre part, l'allaitement ne paraît rien ajouter à l'immunité que les rejetons d'une mère vaccinée apportent en naissant; qu'ils soient nourris par leur propre mère ou par une mère normale, leur degré de résistance n'en est pas sensiblement modifié.

Les observations faites par Ehrlich sur les souris vaccinées contre l'abrine, la ricine et le tétanos ne sauraient donc avoir une portée générale.

La théorie d'Ehrlich ne se limite pas aux cas où la vaccination provoque la formation d'une substance antitoxique. Elle vise l'ensemble de tous les faits : suivant les besoins de la cause, le descendant reçoit de la mère soit l'antidote du poison, soit la substance bactéricide qui préserve contre l'infection, comme si ces deux termes résumaient tout le mécanisme de l'immunité.

Mais il est des immunités à propos desquelles on ne saurait faire intervenir une propriété antitoxique ou bactéricide des humeurs.

Nous avions pensé trouver dans le charbon un exemple du genre. Metchnikoff a établi, en effet, que la propriété bactéricide des humeurs ne joue aucun rôle dans l'immunité contre cette maladie; d'autre part, au moment où nos recherches se poursuivaient, il n'était pas encore question, à son sujet, d'une action préventive du sérum. Depuis lors Marchoux¹ a fait connaître les vertus prophylactiques et même curatives du sang des animaux

1. MARCHOUX, ces *Annales*, 1895.

hypervaccinés. L'exemple n'était donc pas démonstratif. Cependant les faits observés conservent leur valeur. Des lapines vaccinées contre le charbon ont communiqué à leurs petits une immunité certaine. Cette immunité des jeunes n'était assurément pas due à l'existence d'une substance préventive dans leur sang, car les générateurs ne présentaient pas le degré d'immunisation nécessaire à l'apparition de cette propriété, et leur sérum employé à hautes doses n'a manifesté aucun pouvoir préservateur. La mère ne pouvant transmettre aux rejetons ce qu'elle ne possède pas, l'immunité de ceux-ci tenait donc nécessairement à une autre condition que le pouvoir bactéricide ou préventif du sang; cette condition, négligée par Ehrlich, doit être l'aptitude des cellules phagocytaires à englober et à immobiliser le virus.

Plus typique est l'exemple de l'immunité transmise contre le vibron avicide. La propriété bactéricide des humeurs n'y prend aucune part (Metchnikoff). On sait en outre que les cobayes réfractaires au vibron conservent toute leur sensibilité à sa toxine; la vaccination pratiquée suivant les procédés en usage dans les laboratoires ne détermine pas la formation d'une substance antitoxique. Si donc les cobayes issus de femelles vaccinées contre le vibron possèdent l'immunité, ce n'est point que leur sang contienne une substance bactéricide ou préventive, puisque celle-ci n'existe pas dans le sang maternel; leur résistance dérive essentiellement de l'aptitude des cellules à détruire le virus.

Les détails qui précèdent comportent leur conclusion.

Deux parties sont à considérer dans la théorie d'Ehrlich sur l'immunité héréditaire. L'une établit que les cellules sexuelles ne prennent aucune part à sa transmission; loin d'y contredire, nos observations en fournissent une nouvelle preuve. L'autre vise le mécanisme suivant lequel la mère communique à ses descendants l'état réfractaire, et le fait exclusivement dépendre de la persistance chez le nouveau-né des matières antitoxiques ou bactéricides maternelles.

Inspirée par une conception trop humorale de l'immunité, cette partie de la doctrine se présente avec des lacunes et des imperfections qui ne permettent pas de la considérer comme l'entièvre expression de la vérité; basée sur une donnée exacte, mais exacte seulement pour un cas particulier, elle accorde à l'allaitement un rôle général qui est loin de lui appartenir;

dans son ensemble elle n'offre pas à la totalité des faits un cadre suffisant pour les contenir.

B. — *Théorie de l'hérédité cellulaire.*

D'après Duclaux, Arloing, Charrin et Gley, l'immunité héréditaire traduit essentiellement la transmission d'un attribut cellulaire. Si les rejetons se défendent comme l'ascendant, la raison en est, disent Charrin et Gley, que leurs cellules ont reçu l'aptitude phagocytaire par l'intermédiaire des cellules génératrices des leucocytes, ou bien que la propriété de produire des substances antitoxiques ou bactéricides leur a été infusée, comme d'autres virtualités fonctionnelles, par l'ovule et le spermatozoïde. Cette opinion invoque à son actif les travaux des histologistes établissant que dans l'acte intime de la fécondation, la fusion de l'ovule et du spermatozoïde apporte à la constitution de la cellule engendrée une part égale de l'élément mâle et de l'élément femelle. Dès lors, estime Charrin, « pourquoi l'atome albuminoïde, qui dans l'organite des génératrices sécrétait des matières microbicides, digérait les germes inclus, ne persistera-t-il pas à remplir ces mêmes rôles au sein de l'élément fœtal qu'il a contribué à former en se détachant des tissus de l'ascendant » ?

Au point de vue spéculatif, cette théorie peut sembler vraisemblable, mais pour devenir vraie elle a besoin d'un autre appui que des probabilités. Or elle se heurte à un argument de fait contre lequel toutes les inductions ne sauraient prévaloir. Si le mobile de l'immunité héréditaire se résume dans le transfert d'une propriété inhérente à la cellule génératrice, la cellule mâle doit nécessairement intervenir comme la cellule femelle, puisque, d'après les cytologistes, l'une et l'autre entrent pour une part égale dans la constitution de la cellule engendrée. L'expérimentation démontre qu'il n'en est pas ainsi. Dans les recherches d'Ehrlich et celles que nous avons poursuivies, le mâle n'a jamais transmis l'immunité à ses descendants¹. Au dire de Charrin, *il est rare, il est inouï* que cette transmission s'effectue quand le père seul a été rendu réfractaire ; encore reste-t-il à démontrer que le cas unique considéré comme positif par

¹ Wernicke est arrivé aux mêmes résultats en ce qui concerne l'immunité acquise contre la diphtérie.

Charrin et Gley constitue une preuve à l'appui de cette transmission. Quant aux faits produits par Tizzoni et Centanni, on ne peut en tenir compte, tant ils s'éloignent des règles élémentaires d'une judicieuse expérimentation.

IV

L'incapacité du mâle à communiquer l'état réfractaire fournit la preuve que la source de l'immunité transmise ne doit pas être cherchée dans un legs des cellules sexuelles. Dès lors, il n'y a pas lieu de remonter à l'origine première de l'être, à l'acte même de la fécondation pour saisir le moment où la *mère* transmet l'immunité. C'est ultérieurement, à partir de l'instant où l'ovule fécondé commence son évolution dans l'utérus, et du fait même de l'évolution intra-utérine, que le descendant reçoit du générateur ce qui le rendra plus résistant à l'intoxication ou à l'infection.

Depuis le début de son développement jusqu'à sa naissance, le nouvel être se nourrit et s'accroît aux dépens des matériaux solubles du plasma maternel; il en est sans cesse imprégné. Peut-être les échanges ne sont-ils pas limités à la dialyse des produits solubles; les membranes placentaires se laissent si fréquemment traverser par les virus que, sans doute, elles doivent aussi livrer passage aux cellules mobiles du sang maternel (divers faits démontrent la réalité de cette émigration leucocytaire). On ne peut chercher ailleurs que dans l'une ou l'autre de ces deux conditions, action du plasma ou des cellules de la mère, l'explication du phénomène.

Pour les immunisations donnant lieu à la formation d'une antitoxine, on doit reconnaître que celle-ci passe du plasma maternel dans le plasma fœtal. Mais ce n'est point parce que cette substance circule dans les humeurs des rejetons que ceux-ci naissent réfractaires; certains d'entre eux possèdent l'immunité sans avoir un sang antitoxique, tandis que d'autres, dont le sang manifeste cette propriété, succombent à l'épreuve. L'immunité résulte plus réellement des effets subis par certains éléments cellulaires. L'antitoxine maternelle doit agir sur le fœtus comme le sérum injecté à un animal adulte: elle impressionne les cellules actionnées par le poison contre lequel l'ascendant est vacciné.

(abrine, ricine, téтанos, diphtérie) et les rend insensibles à l'intoxication; elle communique aussi aux cellules phagocytaires l'aptitude qui leur permet d'englober et de détruire les agents de l'infection.

L'action de l'antitoxine maternelle s'exerce pendant toute la durée, à tous les instants de la vie intra-utérine; aussi conçoit-on que l'immunité ainsi produite se montre plus prolongée que celle d'un animal auquel on a injecté en une seule fois une dose déterminée de sérum. Il y a même lieu de se demander si, par cette excitation incessante de l'antitoxine sur l'organisme fœtal, celui-ci ne devient pas capable de la sécréter à son tour. Ainsi s'expliquerait pourquoi le sang des animaux issus d'une mère immunisée contre le téтанos peut encore contenir de l'antitoxine deux mois et plus après la naissance, bien que, en règle, cette substance s'élimine assez promptement, et que, d'autre part, chez le cobaye comme chez le lapin, l'allaitement n'ajoute rien à la provision reçue *in utero*. Il est difficile de comprendre autrement le fait où nous avons vu le rejeton d'une mère hypervaccinée contre le téтанos transmettre à son descendant une résistance évidente contre le poison tétanique.

Les immunités qui ne paraissent pas admettre l'existence de substances antitoxiques doivent vraisemblablement se transmettre suivant un mode analogue. Après avoir tenté de les expliquer par une propriété bactéricide des humeurs, on a dû reconnaître qu'elles avaient pour véritable mobile la destruction intra-cellulaire des virus. Dans ces cas, la mère communique au descendant non pas telle qualité des humeurs qui les rend impropres au développement des microbes, mais une propriété cellulaire caractérisée par l'aptitude à englober et à détruire les microbes. Il n'est pas aisé de préciser comment les cellules fœtales acquièrent cette propriété, mais elle leur survient assurément du fait de leur contact prolongé avec les matériaux du plasma maternel. Peut-être le leucocyte de la mère sécrète-t-il une substance dont l'effet sur les cellules mobiles du fœtus imprime à ces dernières une propriété semblable à celle qu'il possède lui-même.

Dans un cas comme dans l'autre, l'immunité des rejetons s'explique par l'action du plasma maternel sur les tissus fœtaux; elle doit à cette circonstance son éphémère durée, caractère

constant des vaccinations obtenues avec le sérum des animaux rendus réfractaires.

V

Trois faits principaux se dégagent des observations précédentes.

La mère seule est apte à communiquer l'immunité à ses descendants.

Le père ne la transmet jamais.

L'immunité reçue du générateur est toujours de brève durée ; elle s'efface dès les premiers mois de la vie.

Ces données sont en opposition formelle avec le rôle attribué à l'immunité dite héréditaire dans l'histoire générale des maladies infectieuses de l'homme. C'est par la sommation des immunités ou des résistances héréditairement transmises que l'on a voulu expliquer la malignité décroissante de certaines maladies au cours des siècles, leur inégale gravité actuelle chez les divers sujets d'une collectivité comme aussi la marche et la léthalité différentes des épidémies suivant les milieux où elles se développent. Le champ d'action de l'immunité héréditaire est déjà restreint par ce fait que, des deux générateurs, un seul est apte à la donner. Mais ce qui en diminue encore plus la portée, c'est sa précoce disparition ; son influence préservatrice ne s'étend pas au delà des premiers mois de la vie. Encore faut-il ajouter que cette transmission de l'immunité maternelle ne se produit peut-être pas aussi communément dans l'espèce humaine qu'on est tenté de le croire. Pour l'observer expérimentalement, on est obligé de recourir à des animaux *hypervaccinés*, dont l'immunisation est portée à un degré qu'une simple atteinte de la maladie infectieuse ne confère jamais ; puisque l'immunité transmise par ces animaux se montre si fugace, qu'en sera-t-il des autres ?

LE CHOLÉRA À CONSTANTINOPLE DEPUIS 1893

PAR M. NICOLLE

Directeur de l'Institut Impérial Bactériologique.

Depuis novembre 1893, époque de notre arrivée à Constantinople, nous avons été chargé par le gouvernement impérial ottoman de l'examen bactériologique de nombreux cas de choléra. Les selles des malades suspects nous ont été envoyées le plus souvent; au cours des poussées épidémiques, beaucoup de déjections ont été également soumises à notre examen. Enfin nous avons eu à étudier un grand nombre d'échantillons d'eaux provenant des endroits contaminés.

Notre rôle s'étant borné là, nous ne prétendons pas tracer un tableau exact du choléra à Constantinople dans ces deux dernières années. Toutefois, nous pensons qu'il y a intérêt à résumer brièvement le résultat de nos recherches.

Évolution du choléra. — La première poussée épidémique s'est étendue du 24 août 1893 au milieu d'avril 1894. L'histoire en a été rapportée par les Drs Chantemesse (*Semaine médicale*); Karlinski, Mordtmann (*Hygienische Rundschau*) et Matthiolus (*Archiv für Hygiene*).

Le 25 avril 1894, est apparu un cas isolé. En août 1894, quelques cas à Stamboul et à la caserne Sélimié (côte d'Asie). En octobre et novembre quelques cas encore à Stamboul.

La seconde poussée épidémique a régné de décembre 1894 à mars 1895.

Depuis mai 1895 jusqu'au milieu de septembre, un petit nombre de cas seulement à Stamboul.

Enfin, en janvier 1896, deux cas isolés.

Origine. Mode de contamination. — L'origine de la première épidémie est assez obscure. Comme tous les autres cas isolés ou initiaux, elle a dû être importée d'Anatolie.

Le cas du 25 avril 1894 se rapporte à un voyageur venu de Sivas, où régnait alors le choléra.

Les cas d'août, octobre et novembre 1894 sont de provenance Anatolique.

La seconde épidémie semble due à l'arrivée des recrues venant de divers points de l'Asie Mineure.

Enfin les cas observés depuis ont eu vraisemblablement la même origine.

Il ne paraît pas, en effet, que le choléra ait de la tendance à s'acclimater ici, et qu'il se soit produit des récidives autochtones par infection durable du milieu extérieur. Cependant, au cours des deux poussées épidémiques, il y a eu certainement contamination des eaux et transmission de l'affection par leur intermédiaire. À ce point de vue nos observations corroborent pleinement l'opinion de notre ami, le Dr Chantemesse.

La propagation s'est faite suivant deux types : tantôt d'une façon diffuso, tantôt en suivant le cours de canalisations déterminées. La propagation diffuse correspond à l'infection par les malades, les personnes qui les entourent, ou leurs effets. M. Mondragon, qui dirige le service de désinfection à la préfecture, nous a cité des faits qui montrent bien l'impossibilité de suivre la trace de certaines contaminations. Plusieurs fois, voulant prendre les effets des cholériques pour les transporter à l'étuve, il apprit que ces effets avaient été vendus à des brocanteurs ambulants, lesquels les avaient certainement dispersés à droite et à gauche.

Comme type de propagation suivant les canalisations, nous citerons avant tout les cas qui ont éclaté exclusivement dans les quartiers tributaires de l'eau du Taxim au début de l'année 1894.

Caractères des selles suspectes. Isolement des vibrions. — Nous n'avons examiné qu'une seule fois des pièces provenant d'autopsie. Le reste de nos recherches a trait aux déjections de malades suspects ou atteints de choléra type.

Les selles nous ont été envoyées par S. E. Eumer Pacha, inspecteur sanitaire de la préfecture; par le Dr Stékoulis, médecin de la Quarantaine, et par le ministère de la Guerre. Suivant nos indications, ces selles ont été le plus souvent recueillies dans des vases stérilisés.

L'aspect macroscopique était très variable. Tantôt riziforme, ou analogue à de la soupe à la farine ; tantôt jaune, rappelant un œuf brouillé ; tantôt, et fort souvent, simplement diarrhéique, rarement biliaire ou sanguinolent.

A l'examen microscopique (coloration par le violet de gentiane phéniqué), nous avons toujours trouvé facilement les vibrions. Quelquefois on eût dit une culture, tant ils étaient abondants ; chose singulière, cet aspect s'est montré plus fréquent dans les selles d'apparence simplement diarrhéique que dans les selles riziformes. A côté des vibrions, on distinguait le plus habituellement le colo-bacille et toujours ces fins spirilles signalés par nombre d'auteurs et réfractaires à toute culture.

L'isolement des vibrions ne nous a jamais présenté la moindre difficulté. Nous réussissons presque toujours en faisant une dilution des selles dans l'eau stérilisée, et en ensemencant avec cette dilution deux ou trois tubes de gélose sans recharger le fil de platine. Rarement, une culture préalable dans un tube d'eau peptonisée à 10/0 a été nécessaire.

Sur la gélose, ainsi ensemencée, apparaissent rapidement, à côté des colonies de *bacterium coli*, des colonies vibrionniennes plus petites, plus régulièrement arrondies, plus transparentes, sans épaississement de leur partie centrale. Il n'est pas rare de rencontrer aussi des streptocoques. D'autres organismes, dans ce mode d'isolement, sont exceptionnels.

Le *bacterium coli*, ainsi isolé, a une virulence variable ; le streptocoque, plusieurs fois inoculé au lapin, s'est montré inoffensif même à fortes doses.

Caractères des vibrions à Constantinople. — Les vibrions isolés ici depuis 1893 correspondent à la description donnée par le Dr Chantemesse, c'est-à-dire au vibrion de Koch classique. Nous n'avons rencontré qu'une seule exception qui fera l'objet d'une étude spéciale. (Voir plus loin.)

Voici les caractères résumés de ce vibrion de Constantinople. Organisme virgulaire, appartenant à la forme courte ; monocilié. Sur les plaques de gélatine, culture apparente au microscope après 24 heures, sous forme d'un petit amas granuleux à bords irréguliers ; puis liquéfaction du milieu. Dans la gélatine par piqûre, bulle d'air après 24 heures ; la liquéfaction se continue

régulièrement les jours suivants ; la bulle d'air disparaît du cinquième au sixième jour. Sur pomme de terre, couche brun clair, assez épaisse. Dans le bouillon et l'eau peptonisée, voile bien développé. Coagulation du lait. Réaction indol-nitreuse bien marquée. Les vibrions sont pathogènes pour le cobaye et souvent aussi pour le pigeon (dans le péritoine). Il nous a semblé qu'au cours des poussées épidémiques, les vibrions tuaient plus souvent le pigeon que lors de cas isolés ou de foyers circonscrits ; c'est là un point qu'il serait intéressant de vérifier par des recherches systématiques. Les vibrions donnent le phénomène de Pfeiffer (Metchnikoff, Bordet et nous-même). Enfin, avec une de nos cultures, M. Metchnikoff a reproduit sous nos yeux, dans son laboratoire, le choléra expérimental des jeunes lapins.

Cas légers. — Nous n'avons eu qu'une fois l'occasion d'examiner des selles provenant d'une forme atténuée de choléra. Il s'agissait d'une diarrhée intense avec déjections rappelant l'aspect de la soupe à la farine, dans lesquelles les vibrions ont été rencontrés depuis le début jusqu'au huitième jour. Il n'existe pas de phénomènes généraux.

Cette attaque cholérique s'est produite chez une personne qui était allée la veille passer la journée à Ortakeuï, localité où existaient alors des cas de choléra, et dont les eaux contenaient de nombreux vibrions. Les vibrions de ce cas léger avaient tous les caractères du vibron de Koch et se sont montrés très pathogènes pour le cobaye.

Nous ajouterons qu'au cours des deux épidémies, ont régné de nombreuses diarrhées sans gravité dont nous avons souvent réclamé l'examen. Malheureusement, on avait alors à s'occuper avant tout des cas graves, et il a été impossible de nous satisfaire.

Rôle des eaux. Vibrions trouvés dans les eaux. — Le rôle des eaux, lors des deux épidémies et dans les cas où se sont produits des foyers limités, nous paraît indéniable. Un premier fait, c'est l'abondance spéciale des vibrions dans les eaux pendant les recrudescences épidémiques, et la plus grande facilité de leur isolement.

Les vibrions rencontrés par nous appartiennent aux types suivants :

Vibrions liquéfiant.

1. Type Koch.
- 2. Type Finkler et Prior.
- 3. Type ne différant du vibrion de Koch que par une liquéfaction lente et superficielle de la gélatine.
- 4. Mêmes caractères que 3; mais réaction indol-nitreuse négative.
- 5. Type Deneke.

Ces cinq types étaient tantôt pathogènes, tantôt inoffensifs.

Vibrions non liquéfiant.

1. Colonies blanches, rappelant sur gélatine l'aspect du pneumo-bacille. Culture brun foncé sur pomme de terre. — Voile mince sur le bouillon. — Pas de coagulation du lait. — Réaction indol-nitreuse positive. Virgules longues à 4 cils. — Non pathogènes.
- 2. Vibrions différent des précédents en ce qu'ils sont courts, monociliés, et ne donnent pas d'indol.
- 3. Vibrions donnant une culture bleu verdâtre dans la gélatine et sur la gélose. Non pathogènes.

Ces divers vibrions ont été rencontrés dans les eaux de canalisation, dans les *bends* (réservoirs d'où l'eau de Taxim tire son origine), et dans nombre de puits et citernes des localités infectées. Nous avons isolé plusieurs échantillons de chaque variété.

N'ayant pas soumis ces vibrions au contrôle de la réaction de Pfeiffer, et n'ayant pas cherché à reproduire avec eux le choléra des jeunes lapins, il nous est impossible de prouver expérimentalement la nature cholérique de certains d'entre eux. L'existence de vibrions cholériques dans les eaux nous semble néanmoins ressortir de tout ce qui précède.

Rôle des pluies, rôle de la température. — Le Dr Chantemesse a montré que, lors de la première épidémie, les fortes pluies avaient été suivies fréquemment d'une recrudescence ou d'une reprise des attaques cholériques. Nous ne pouvons que souscrire à cette manière de voir.

De même, la température exceptionnellement douce du mois de janvier 1895 n'a pas été étrangère à l'extension de la maladie. Celle-ci n'avait commencé en décembre 1894 que par un petit nombre de cas; on l'a vu prendre rapidement l'allure d'une poussée épidémique dès que le temps s'est maintenu chaud.

Rôle de l'alimentation. — Il a été incontestable, comme l'a montré également le Dr Chantemesse. Nous avons été frappé pour notre part de ce qui s'est passé lors de la fin de la première épidémie. Pendant plusieurs semaines, seules les personnes appartenant à la religion grecque, et dont c'était alors le carême, ont été atteintes par l'affection. Ces personnes se soumettaient à des jeûnes prolongés et ne prenaient comme alimentation que quelques plats à l'huile des moins digestifs et des moins réconfortants, notamment des moules (lesquelles donnent souvent ici des empoisonnements). Dans les mêmes rues, les habitants appartenant à une autre religion n'ont pas été une seule fois atteints.

Un fait analogique s'est d'ailleurs produit à propos de la fièvre typhoïde. Le médecin du stationnaire français, le Dr Gauran, nous a prié l'an dernier d'examiner les eaux consommées à bord, parce que la majeure partie de l'équipage avait été prise presque subitement de dothiéntérite ; les eaux n'étaient pas très bonnes et ont été remplacées immédiatement par de l'eau filtrée.

Mais le point intéressant de cette épidémie, c'est que l'infection typhique avait éclaté presque en même temps chez tous les malades à la suite de violentes indigestions causées par l'usage d'huîtres péchées dans la vase.

Toutes ces notions confirment les idées de M. Metchnikoff sur l'importance des causes prédisposantes dans l'étiologie des affections intestinales et notamment du choléra.

Nichan Tach, janvier 1896.

NOTE SUR UN VIBRION CHOLÉRIQUE ANORMAL

PAR LE Dr ZIA-EFENDI

Préparateur à l'Institut impérial de bactériologie de Constantinople.

Au cours de la poussée épidémique qui a sévi à Constantinople, de décembre 1894 à mars 1895, nous avons eu l'occasion d'isoler, des selles d'un malade, un vibrion qui diffère de tous ceux rencontrés ici depuis 1893.

Il s'agit d'un individu transporté à l'hôpital de la Marine le 22 janvier 1895, et qui mourut le jour même après avoir rendu des selles riziformes caractéristiques. Ces selles, examinées au microscope, montraient de nombreux vibrions à côté des colibacilles et de fins spirilles. En ensemencant une dilution des déjections par stries sur des tubes de gélose, nous avons isolé un organisme en virgule qui offre des caractères tout à fait anomaux. Le fait est d'autant plus surprenant que les vibrions étudiés depuis 1893 jusqu'à cette année se sont montrés constamment identiques au vibrion type de Koch.

Nous mettrons en parallèle les deux espèces vibrionniennes.

Vibrion de Constantinople.

(1893-94-95-96)

Forme courte. Monocilié.

Dans les plaques de gélatine, culture visible au microscope après 24 heures, sous forme d'un petit amas granuleux à bords irrégulièrement circulaires. Puis liquéfaction du milieu suivant le type connu.

Dans la gélatine par piqûre, bulle d'air après 24 heures, disparaissant du 5^e au 6^e jour.

La liquéfaction se continue progressivement.

Vibrion anormal.

(22 janvier 1895.)

Forme longue. Multicilié (4 cils au maximum).

Dans les plaques de gélatine, culture offrant au microscope le même aspect après 24 heures. Mais pas de liquéfaction ultérieure.

Pas de liquéfaction.

Culture par piqûre dans la gélatine rappelant celle du pneumobacille.

Brunit un peu à la longue.

Couche brun clair sur pomme de terre.	Couche brun foncé sur pomme de terre.
Coagule le lait.	Ne coagule pas le lait.
Voile épais sur le bouillon et l'eau peptonisée.	Voile mince sur le bouillon et l'eau peptonisée.
Réaction indol-nitreuse.	Pas de réaction indol-nitreuse.
Vibrion pathogène pour le cobaye et souvent pour le pigeon (dans le péritoine). Donne le phénomène de Pfeffer. Donne le choléra expérimental aux jeunes lapins (METCHNIKOFF).	Non pathogène.

Avons-nous affaire à une anomalie du vibrion cholérique ou à une espèce distincte ? Il est impossible de le savoir exactement. Pendant les jours qui ont précédé et suivi l'isolement de ce vibrion, nous avons trouvé constamment dans les selles de nombreux malades des vibrios tout à fait typiques. D'autre part, cet échantillon anormal provenait d'un cas caractéristique de choléra.

Tout ce que nous pouvons dire, c'est que, dans les eaux, il nous est arrivé de rencontrer plusieurs fois des vibrios analogues, n'en différant que par l'existence de la réaction indol-nitreuse. Les mêmes causes adjuvantes qui rendent le vibrion cholérique pathogène pour l'homme (microbes favorisants de M. Metchnikoff) ne pourraient-elles pas, à la même époque, avoir rendu un vibrion des eaux pareillement nuisible ?

NICHAN TACH, janvier 1896.

LES VACCINATIONS ANTIRABIQUES A L'INSTITUT PASTEUR EN 1895

PAR HENRI POTTEVIN

I

Pendant l'année 1895, 4,523 personnes ont subi le traitement à l'Institut Pasteur: 5 sont mortes de la rage; chez 3 d'entre elles, les premiers symptômes se sont manifestés moins de quinze jours après la dernière inoculation. Une personne a été prise de rage au cours des inoculations, elle n'est pas comptée au nombre des personnes traitées.

Nous avons donc :

Personnes traitées.....	4,520
Morts	2
Mortalité	0,13

Dans le tableau suivant, ces chiffres ont été rapprochés de ceux fournis par les statistiques des années précédentes.

Années.	Personnes traitées.	Morts.	Mortalité 0/0.
1886	2674	25	0,94
1887	4770	44	0,79
1888	1622	9	0,55
1889	1830	7	0,38
1890	1540	5	0,32
1891	1559	4	0,25
1892	1790	4	0,22
1893	1648	6	0,36
1894	1337	7	0,50
1895	4520	2	0,13

II

Les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories correspondant aux tableaux suivants :

Tableau A. — La rage de l'animal mordeur a été expérimentalement constatée par le développement de la rage chez des animaux inoculés avec son bulbe.

Tableau B. — La rage de l'animal mordeur a été constatée par examen vétérinaire.

Tableau C. — L'animal mordeur est suspect de rage.

Nous donnons ci-dessous les résultats détaillés pour 1895.

	MORSURES À LA TÊTE			MORSURES AUX MAINS			MORSURES AUX MEMBRES			TOTALS		
	Traitées.	Morts.	Mortalité.	Traitées.	Morts.	Mortalité.	Traitées.	Morts.	Mortalité.	Traitées.	Morts.	Mortalité.
Tableau A....	48	0	0	62	0	0	42	0	0	122	0	0
Tableau B....	108	0	0	555	1	0,18	286	1	0,35	949	2	0,21
Tableau C....	30	0	0	212	0	0	207	0	0	449	0	0
	436	0	0	829	4	0,12	535	1	0,18	1320	2	0,13

III

Au point de vue de leur nationalité, les 1,520 personnes traitées en 1895 se répartissent de la façon suivante :

Angleterre.....	173	Hollande.....	6
Belgique.....	6	Indes Anglaises.....	20
Égypte.....	2	Suisse.....	35
Espagne.....	41	Turquie.....	2
Grèce.....	2		

soit 257 étrangers et 1,263 Français.

Nous donnons ci-après la répartition par départements des 1,263 Français.

Ain.....	43	Loiret.....	1
Aisne.....	13	Lot.....	16
Allier.....	4	Lot-et-Garonne.....	12
Alpes (Basses).....	0	Lozère.....	0
Alpes (Hautes).....	0	Maine-et-Loire.....	2
Alpes-Maritimes.....	0	Manche.....	2
Alger.....	0	Marne.....	1
Ardèche.....	4	Marne (Haut-).....	2
Ardennes.....	4	Mayenne.....	1
Ariège.....	18	Meurthe-et-Moselle.....	0
Aube.....	4	Meuse.....	1
Aude.....	6	Morbihan.....	9
Aveyron.....	19	Nièvre.....	2
Bouches-du-Rhône.....	0	Nord.....	4
Calvados.....	7	Oise.....	6
Cantal.....	47	Oran.....	0
Charente.....	6	Orne.....	11
Charente-Inférieure.....	20	Pas-de-Calais.....	22
Cher.....	1	Puy-de-Dôme.....	4
Constantine.....	0	Pyrénées (Basses).....	20
Corrèze.....	12	Pyrénées (Hautes).....	6
Corse.....	0	Pyrénées-Orientales.....	16
Côte-d'Or.....	1	Rhin (Haut-).....	0
Côtes-du-Nord.....	25	Rhône.....	152
Creuse.....	4	Saône (Haute).....	1
Dordogne.....	23	Saône-et-Loire.....	4
Doubs.....	0	Sarthe.....	0
Drôme.....	25	Savoie.....	8
Eure.....	4	Savoie (Haute).....	0
Eure-et-Loir.....	0	Seine.....	359
Finistère.....	22	Seine-et-Marne.....	42
Gard.....	4	Seine-et-Oise.....	62
Garonne (Haute).....	25	Seine-Inférieure.....	52
Gers.....	10	Sèvres (Deux).....	7
Gironde.....	22	Somme.....	10
Hérault.....	29	Tarn.....	3
Ille-et-Vilaine.....	8	Tarn-et-Garonne.....	16
Indre.....	4	Tunisie.....	0
Indre-et-Loire.....	1	Var.....	0
Isère.....	67	Vaucluse.....	4
Jura.....	1	Vendée.....	0
Landes.....	24	Vienne.....	0
Loir-et-Cher.....	2	Vienne (Haute).....	3
Loire.....	43	Vosges.....	0
Loire (Haute).....	3	Yonne.....	3
Loire-Inférieure.....	5		

SUR L'EXISTENCE DANS LA NATURE D'UN VIRUS RABIQUE RENFORCÉ

PAR LE DR ALPHONSE CALABRESE

Préparateur à l'Institut et à la Clinique.

(Travail de l'Institut antirabique de Naples, dirigé par le Professeur Cardarelli.)

On sait que le virus rabique peut changer de virulence par le passage au travers de certaines espèces d'animaux, s'atténuer, par exemple, par passage au travers du singe (Pasteur¹) ou par le chien (Celli et Marino Zuco²); s'exalter, au contraire, par passage au travers du cobaye ou du lapin (Pasteur³, Högyes⁴), ou au travers du chat (de Blasi et Russo-Travali⁵). De là, la distinction entre le virus des rues, ou virus des chiens errants, et le virus fixe, ou virus de laboratoire : le premier donnant la rage en 15 à 18 jours à des lapins de moyenne taille, inoculés dans l'œil ou par trépanation; le virus fixe déterminant la rage en 7 jours chez le lapin, en 4 à 5 jours chez le cobaye.

Cette distinction n'est pas absolue. On s'est aperçu, en effet, que le virus des rues est de virulence très variable. Voici, en effet, un tableau qui donne la période d'incubation rabique de 280 lapins qu'on a inoculés ici depuis la fondation de l'Institut jusqu'à aujourd'hui, avec du virus des rues, pour faire le diagnostic de la rage chez divers animaux. On n'a fait figurer dans ce tableau que les cas non douteux, c'est-à-dire ceux où l'expérience de contrôle avait bien montré que le lapin inoculé était mort rabique.

1. *Acad. des Sciences*, 19 mai 1884.

2. *Annali dell' Istituto d'Igiene sper. della R. Univ. di Roma*, t. II, nouv. série, fasc. 1.

3. *Acad. d. Sciences*, février 1884.

4. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. II, no 3.

5. *Giornale d. R. Accad. di medicina di Torino*, XLII, fasc. 4 et 5.

PROVENANCE du VIRUS	NOMBRE DE JOURS D'INCUBATION																				TOTAL					
	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
Chien	3	5	6	4	10	20	24	36	28	25	46	15	7	5	6	40	5	5	2	1	3	5	2	2	1	244
Chat	"	1	"	"	"	"	"	6	3	5	"	2	"	"	"	"	"	"	"	1	"	"	"	"	"	18
Porc	"	"	"	"	"	"	"	3	"	2	1	"	1	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	7
Mouton	"	1	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	4
Ane	"	"	"	"	"	"	2	"	1	"	"	4	"	1	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	5
Génisse....	"	"	"	"	"	"	"	"	1	1	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	2
Loup	"	"	"	"	"	"	1	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	1
Homme....	"	"	"	"	"	"	"	"	2	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	2
Somme....	3	7	6	4	40	24	26	48	35	33	47	48	7	7	6	40	5	5	2	1	4	3	2	2	1	280

On voit dans ce tableau que la période d'incubation du virus de rue a varié de 7 à 33 jours¹. Celle de 14 jours est la plus fréquente.

On a fait avec soin le contrôle pour les incubations les plus longues et pour les plus courtes, en s'entourant des précautions nécessaires pour éviter toute espèce de doute au sujet du résultat. Le virus le plus lent a conservé sa période d'incubation dans le lapin de contrôle, ou ne l'a diminuée que de 1 à 5 jours. Les incubations les plus courtes se sont retrouvées pareilles dans le lapin de contrôle. Il n'y a eu exception que pour deux cas :

1^o Un lapin de taille moyenne, inoculé le 29 août 1888, avec le bulbe d'un chien suspect de rage, est mort le 9^e jour et a servi à inoculer un autre lapin qui est mort seulement après 15 jours;

2^o Un gros lapin, inoculé le 16 juillet 1895, avec le bulbe d'un chien, est mort en 8 jours, et son lapin de contrôle au bout de 20 jours seulement.

Sauf ces deux exceptions, la période d'incubation n'a pas changé sensiblement, de sorte que l'on peut assurer qu'il y a des virus de rue aussi virulents que le virus fixe.

Bordoni-Uffreduzzi, qui a appelé en 1889 (*l. c.*) l'attention sur ce fait, a inoculé des lapins avec le bulbe d'un homme mort de rage paralytique, et a obtenu la mort en 8 jours dans quatre passages consécutifs. Il conclut qu'il y a dans la nature des virus renforcés par des voies encore inconnues.

J'ai retrouvé cette année deux cas de très courte incubation, qui figurent au tableau ci-dessus : le premier se rapporte à un mouton d'Ottaviano (Naples), mort avec des symptômes rabiques une vingtaine de jours après avoir été mordu par un chien suspect et mordeur. Les lapins inoculés avec le bulbe de ce mouton sont tous morts le 8^e jour. Le second cas se rapporte à

1. BORDONI-UFFREDUZZI (*La rabbia canina e la cura Pasteur*, Turin, 1889) a vu une période de 203 jours d'incubation chez un lapin.

un chien de S. Cipriano Picentino (Salerne), abattu parce qu'il avait mordu des personnes et des animaux ; les lapins inoculés avec son bulbe sont morts en 7 jours.

Dès que j'ai été en possession du 1^{er} cas, je me suis proposé de rechercher si ce virus renforcé par des voies naturelles ressemblait au virus de laboratoire pour sa stabilité, ou bien si sa virulence était accidentelle et contingente. J'ai donc cherché comment se comportaient ces deux virus actifs : 1^o par passage en série sur le lapin; 2^o vis-à-vis d'autres animaux; 3^o vis-à-vis des agents externes.

1^o PASSAGES PAR LE LAPIN.

Le virus de laboratoire est fixe. Le nôtre, qui en est à son 450^e passage depuis qu'il est sorti du laboratoire de Pasteur, rend le lapin rabique à la fin du 5^e ou au commencement du 6^e jour. J'ai cherché si les deux virus naturels se comportaient de même. Par prudence, j'ai inoculé à chaque passage deux animaux. Je ne cite que celui qui est mort le plus vite et qui a servi, par suite, à faire le passage suivant.

Numéro du passage.	MOUTON D'OTTAIANO			CHIEN DE S. CIPRIANO		
	Poids du lapin en kilog.	N. de jours d'incubation.	Durée de la survie.	Poids du lapin en kilog.	N. de jours d'incubation.	Durée de la survie.
1	4.890	8	10	1.340	7	9
2	1.750	8	11	1.280	7	9
3	1.580	8	9	1.720	6	8
4	1.340	8	10	1.580	7	8
5	1.285	7	10	1.340	7	9
6	1.110	7	10	1.530	6	9
7	1.955	8	9	1.680	6	8
8	1.630	8	10	1.565	6	8
9	1.320	7	9	1.980	7	9
10	1.860	8	10	1.720	7	9
11	1.530	8	11	1.630	7	10
12	1.480	7	10	1.340	6	8
13	1.360	7	9	1.270	6	8
14	1.920	8	10	1.520	6	8
15	1.890	7	9	1.280	6	9
16	1.720	8	10	1.640	7	10
17	1.680	8	10	1.740	7	9
18	1.435	7	9	1.960	7	9
19	1.270	7	9	1.725	7	9
20	1.425	8	10	1.530	6	8
21	1.270	8	10	1.280	7	8
22	1.470	8	10	1.840	7	9
23	1.525	8	10	1.520	7	10
24	1.630	8	10	1.425	7	8
25	<i>Ou interrompt la série.</i>			1.535	6	8
26				1.250	7	9
27				1.345	7	9
28				1.790	6	9

On interrompt la série.

On voit que ces deux virus se comportent comme des virus fixes par passage au travers du lapin. Il eût été intéressant de poursuivre la série : les ressources dont nous disposons ne me l'ont pas permis.

2^e ACTION SUR D'AUTRES ANIMAUX.

La moelle du mouton d'Ottaïano, conservée 12 jours dans la glycérine, m'a servi à inoculer :

1^o Deux chiens (4^k,200 et 5^k,800), morts le 13^e et le 16^e jour;

2^o Deux cobayes (480 grammes et 650 grammes), morts le 7^e et le 8^e jour;

3^o Un lapin de contrôle, pesant 1,780 grammes, mort en 8 jours.

La moelle du chien de S. Cipriano, conservée 10 jours dans la glycérine, a servi à inoculer :

1^o Deux chiens de 6^k,450 et 4^k,200, morts le 16^e et le 14^e jour;

2^o Deux cobayes de 540 grammes et 525 grammes, morts le 5^e et le 6^e jour;

3^o Un lapin de contrôle, pesant 1,760 grammes, mort le 7^e jour.

Ces deux virus se comportent donc vis-à-vis des animaux comme le virus renforcé de laboratoire.

3^e RÉSISTANCE AUX AGENTS EXTÉRIEURS.

Je me suis contenté d'étudier la résistance à la dessiccation, à la chaleur, et à quelques agents chimiques (sublimé et acide phénique).

Toutes les notions qu'on a à ce sujet ne concernent que le virus fixe. On sait que la dessiccation des moelles ne commence à produire son effet que le second jour, et finit par supprimer la virulence le 12^e jour. Babès¹ est le seul à avoir constaté des résultats positifs en inoculant une moelle de 14 jours.

Quant à l'action de la chaleur, Celli² a vu que le virus était détruit, après 30 minutes, à 100°; ou après une heure, entre 50° et 60°; ou après 24 heures, à 45°; tandis que Babès³ trouve qu'il

1. *Virchow's Archiv.*, 1887, t. CX.

2. *Bollettino d. R. acc. med. di Roma*, 1886-87, f. VIII.

3. *Journal des connaissances médicales*, 1887.

suffit pour cela de 1 minute à 65°, 3 minutes à 60°, 5 minutes à 58° et 60 minutes à 40°. De Blasi et Russo-Travali¹ ont vu qu'à l'obscurité, une émulsion de moelle devient inactive après 96 heures à 35°, 66 heures à 40°, 20 heures à 45°, 4 heures à 50°, 1 h. 20 min. à 55°, tandis qu'à la lumière diffuse il faut 60 heures à 35°, 36 heures à 40°, 18 heures à 45°, 3 heures à 50°, et 20 minutes à 55°.

Au sujet des agents chimiques, Celli (*l. c.*) a vu que le sublimé à 1/100,000 détruit instantanément l'activité du virus. Babès trouve qu'il faut pour cela 3 heures au sublimé à 1/1,000, ou à l'acide phénique à 1/100. De Blasi et Russo-Travali² disent que le virus est détruit en 50 minutes par l'acide phénique à 5 0/0, en 1 heure par l'acide à 3 0/0, en 2 heures par l'acide à 2 0/0.

Aucune de ces recherches ne se rapporte au virus de la rage des rues : c'est pourquoi j'ai dû faire des essais préliminaires sur un virus des rues, que l'on peut considérer comme typique, provenant d'un chien de Minori (Salerne), dont le bulbe donnait aux lapins une période d'incubation de 18 jours. Je l'ai étudié comparativement au virus fixe de l'Institut, dont la période d'incubation est de 5 à 6 jours.

Pour étudier l'influence de la dessiccation, j'ai employé le système Pasteur pour la conservation des moelles dans un flacon en présence de la potasse caustique, à 20°. Il y a là, intervenant, d'autres influences (chaleur, lumière, oxygène), que j'ai laissées confondues avec la première dans mon expérience de comparaison. Tous les deux jours, on émulsionnait un fragment des moelles, et on l'inoculait par trépanation à deux lapins. Voici les résultats. La lettre R signifie que le lapin inoculé avec la moelle desséchée a résisté, après une période d'observation de 40 jours pour le virus fixe, de 3 mois pour le virus de rue. On a fait l'expérience de contrôle, au sujet de la mort rabique des lapins inoculés, toutes les fois que cela a paru nécessaire.

Durée de la dessiccation, en jours.

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	14
Durée de la survie, en jours,	Virus fixe.....	10	»	13	»	19	»	22	»	37	R
en jours,	Virus de rue....	»	25	»	33	44	R	R	R	»	»
avec le	Virus d'Ottadano.	14	»	17	»	16	»	25	»	38	R
	V. de S. Cipriano.	»	15	»	19	»	20	»	30	R	R

1. *Riforma medica*, avril 1889.

2. *Bollett. d. Soc. d'Igiene di Palermo*, nos 11 et 12, 1889.

Pour étudier l'action de la chaleur, j'ai fait des émulsions de 1 c. de longueur de la moelle avec environ 2 c. c. d'eau, et après avoir entouré les verres d'un papier noir, je les mettais, l'un dans l'étuve à 35° qui nous sert aux cultures de diphtérie, et l'autre dans une étuve à 55°. Au bout de temps variés de séjour, on étudiait la virulence par inoculation intra-crânienne. Voici les résultats :

	Durée de la survie, en jours,	Durée du séjour à 35°.					Durée du séjour à 55°.		
		24 h.	48 h.	72 h.	96 h.	120 h.	30'	1 h.	4 h. 30'
Durée de la survie, en jours, avec le	Virus fixe,	"	20	31	R	R	40	21	R
	Virus de rue,	28	36	R	R	"	22	R	R
	Virus d'Ottaiano.	12	20	28	R	"	14	R	R
	V. de S. Cipriano.	15	27	41	R	"	17	29	R

Enfin, pour étudier l'action de l'acide phénique à 1/0/0 et du sublimé à 1/10,000, j'émulsionnais directement le fragment de moelle dans des solutions à ces titres. De plus, au lieu d'injecter ces émulsions dans le péritoine comme le faisaient mes prédecesseurs, j'ai inoculé sous la dure-mère; je me suis assuré au préalable, par des expériences multipliées, qu'on peut inoculer impunément sous les méninges 5 à 8 gouttes de ces solutions, c'est-à-dire la quantité employée dans les inoculations intra-crâniennes. Voici, comme précédemment, mes résultats :

	Durée de la survie, en jours,	Durée de contact, avec									
		Acide phénique à 1 p. 100.				Sublimé corrosif à 1 p. 10,000.					
30'	1 h.	2 h.	2 h. 30'	3 h.	4 h.	1 h.	2 h.	3 h.	4 h.		
Durée de la survie, en jours, avec le	Virus fixe,	"	12	25	"	R	R	40	13	28	R
	Virus de rue,	24	R	R	"	R	R	33	R	R	"
	Virus d'Ottaiano.	"	21	28	R	R	"	13	20	R	"
	V. de S. Cipriano.	"	43	25	"	R	"	21	30	R	"

Pour toutes ces expériences sur l'action des agents externes, je me suis servi, non des fragments de moelle conservés dans la glycérine, qui ne m'auraient pas suffi, mais de la moelle de chiens inoculés sous la dure-mère soit avec les 2 virus à l'étude, soit avec le virus de la rage des rues (chien de Minori); je n'ai pas voulu me servir de moelles de lapin, de peur que ce passage n'ait suffi à renfoncer la virulence.

On voit que le virus du mouton d'Ottaiano et le virus du chien de S. Cipriano se rapprochent plus du virus fixe que du virus de rue, à quelque point de vue qu'on les envisage. Ils se sont mon-

trés, comme le virus fixe, virulents jusqu'au 10^e jour de dessiccation, subissant à peu près de la même façon que ce virus l'influence de la chaleur et celle des antiseptiques.

Au sujet du virus du mouton d'Ottawano, on pourrait se demander si l'organisme du mouton n'a pas contribué à renforcer le virus du chien qui avait mordu ce mouton une vingtaine de jours auparavant. J'ai cherché à me débarrasser de ce doute en inoculant le virus typique de rage des rues, emprunté à mon chien de Minori, à un très beau mouton pesant 22^k, 300. Seize jours après l'infection intra-oculaire, le mouton ne buvait plus, mangeait peu, grinçait des dents, cherchait à donner des coups de corne, et avait pris une voix étrange. Puis la paralysie commença par le train postérieur, gagna tout le corps, et l'animal mourut au bout de 18 jours, c'est-à-dire comme l'aurait fait un lapin inoculé avec la même moelle.

Deux lapins inoculés avec le bulbe de ce mouton moururent, l'un (1,500 gr.) en 18 jours, l'autre (1,890 gr.) en 20 jours. La bulle du premier lapin a servi à inoculer deux autres (1.560 gr. et 1,630 gr.), qui donnèrent tous deux des signes de rage au bout de 17 jours. On voit donc que l'organisme du mouton est incapable, au moins par un passage, de modifier la virulence du virus de la rage des rues.

Il faut donc conclure qu'il existe, dans la nature, des virus présentant tous les caractères du virus artificiellement renforcé. D'où viennent ces variations de virulence, on l'ignore. Pour l'atténuation, on peut invoquer l'hypothèse de nombreux passages par le chien, en se basant sur les résultats expérimentaux de Celli et Marino Zuco (*l. c.*). Pour le renforcement, comme le cobaye et le lapin ne sont pas des agents naturels de transmission, on pourrait invoquer le loup dont le virus a une activité spéciale, ou le chat, qui renforce naturellement le virus, comme l'ont montré de Blasi et Russo-Travali. Mais ce ne sont là que des conjectures. Il me suffit d'avoir démontré expérimentalement qu'on peut trouver dans la nature des cas de virus stable et virulent à l'égal du virus fixe des laboratoires.

Je termine en remerciant de sa bienveillance et de ses précieux conseils mon maître, M. le professeur Cardarelli, directeur de l'Institut.

Naples, 31 décembre 1893.

RECHERCHES SUR LA PHAGOCYTOSE

PAR LE Dr JULES BORDET

Préparateur à l'Institut Pasteur.

(Travail du Laboratoire de M. Metchnikoff.)

Les propriétés que les leucocytes mettent en jeu pour effectuer la phagocytose et combattre les parasites microbiens ont fait l'objet de nombreux travaux. On sait que les globules blancs sont capables d'englober les microbes, et que l'accomplissement de cette fonction phagocytaire est grandement facilité par la sensibilité des leucocytes vis-à-vis du contact et des substances chimiques secrétées par les microbes. On sait qu'ils sont doués d'un pouvoir bactéricide très manifeste, capable d'anéantir les microbes dont ils se sont emparés. Les matières microbicides des phagocytes peuvent même, lorsque ces cellules souffrent ou ont été retirées de l'organisme, se diffuser dans le milieu ambiant : c'est ainsi que le pouvoir antiseptique du sérum peut être regardé comme l'émanation de celui des leucocytes.

Les faits essentiels qui servent de base à la théorie d'après laquelle l'immunité est due, pour la plus grande part au moins, au fonctionnement régulier de la phagocytose, sont aujourd'hui presque universellement acceptés. Il est cependant quelques points sur lesquels l'accord ne s'est point encore fait. Le rôle de la chimiotaxie dans l'infection et l'immunité a été récemment mis en doute. D'autre part, les altérations que les microbes présentent à l'intérieur des phagocytes méritent d'être étudiées avec de nouveaux détails, d'autant plus qu'en ces derniers temps, divers observateurs ont reconnu que certains microbes subissent, au contact des substances bactéricides de l'organisme, des modifications morphologiques extrêmement intéressantes. Cette question fera avec la chimiotaxie des leucocytes, et particulièrement la chimiotaxie négative, l'objet des lignes qui vont suivre. Dans un prochain article, nous reprendrons la question de l'influence des leucocytes sur les propriétés actives du sérum,



H. Metchnikoff, del.

V. Roussel, lith.

pour faire suite au mémoire publié en juin 1895 dans ces *Annales*.

I. — Phénomènes de chimiотaxie dans l'infection streptococcique par voie péritonéale. Sélection par les phagocytes.

L'infection streptococcique des cobayes par voie péritonéale permet d'étudier facilement des phénomènes de chimiотaxie intéressants. Décrivons rapidement cette infection.

Le streptocoque employé est très virulent ; il nous a été obligamment fourni par M. Marmorek¹. Des doses très faibles de ce microbe tuent les lapins ; les cobayes sont plus résistants, mais succombent cependant à l'injection de doses encore légères. Signalons que le sérum de cobaye n'est pas bactéricide pour le streptocoque, pas plus que le sérum de lapin.

Si l'on injecte à un cobaye, dans le péritoine, une forte dose du virus, 3 à 5 dixièmes de c. c. par exemple, d'une jeune culture en bouillon additionné de liquide d'ascite, voici ce qu'on observe :

Rapidement, on trouve que quelques microbessont déjà contenus dans l'intérieur des phagocytes, d'ailleurs peu nombreux au début. Au bout d'une heure, les leucocytes polynucléaires apparaissent, mais ils sont encore rares ; on trouve néanmoins que bon nombre d'entre eux englobent des microbes ; le nombre de ces phagocytes augmente ensuite rapidement jusqu'à devenir bientôt considérable. Au bout de trois heures, on trouve que les cellules sont de beaucoup plus nombreuses qu'il ne faudrait pour englober tous les microbes présents dans l'ersudat. La quantité des microbes injectés est du reste peu considérable, et ces microbes n'ont pas encore eu le temps de se multiplier abondamment. Toutefois, si grand que soit le nombre des phagocytes, on trouve dans le liquide ambiant des microbes qui n'ont pas été englobés. Alors commence une seconde phase de l'infection. Les microbes non englobés se multiplient et donnent naissance à de nouveaux individus qui se distinguent en ce qu'ils sont petits, presque toujours groupés en diplocoques, plus rarement

1. A. MARMOREK, Le streptocoque et le sérum antistreptococcique. Ces *Annales*, juin 1895.

en chaînettes courtes, et entourés d'une auréole peu colorable, légèrement teintée par l'éosine, ou qui, dans la coloration simple par le bleu de méthyle phéniqué, rougit un peu le réactif et se teint en rose violacé pâle¹.

Au bout de six heures environ, l'exsudat se trouve contenir à la fois un nombre très grand de microbes et de phagocytes. *Mais ces phagocytes sont presque tous vides.* L'englobement du virus, observable au début, ne se produit plus du tout. Le fait est d'autant plus surprenant que microbes et phagocytes doivent se trouver incessamment en contact : à elle seule, la sensibilité au contact que possèdent les phagocytes devrait, semble-t-il, déterminer la phagocytose. Les leucocytes ne sont point paralysés, au contraire, ils présentent des mouvements en tous sens d'une remarquable activité, ainsi qu'on peut s'en convaincre par l'examen à 37°.

Ici intervient un facteur important, la chimiotaxie négative, et nous insistons sur ce point, parce que le rôle, dans l'infection et l'immunité, de la chimiotaxie², et en particulier de la chimiotaxie négative³, a été récemment mis en doute par divers observateurs. Le liquide injecté attirait les leucocytes : le bouillon, même dépourvu de microbes, produit déjà très bien l'afflux de ces cellules. Les microbes répandus dans ce liquide attiraient pour la plupart les globules blancs : c'est pourquoi beaucoup d'entre eux ont été englobés.

Cependant, parmi eux, il s'en trouve qui n'attirent les leucocytes que très faiblement ou pas du tout ; ces microbes parviennent à se dérober à l'action des phagocytes, ils se multiplient, et finissent, sous l'influence d'un milieu nutritif, l'exsudat, très favorable au développement de la virulence, par constituer une nouvelle culture dépassant notablement en pouvoir pathogène celle qu'on a introduite dans l'organisme. Cette nouvelle culture présente même des caractères spéciaux (dimensions des coccus, présence d'une auréole) *mais elle se distingue surtout en ce qu'elle*

1. On peut produire chez les cobayes, en se servant de cultures un peu anciennes, une affection où le streptocoque n'apparaît en grand nombre et ne tue l'animal qu'après plusieurs jours. Dans ces cas, les microbes se présentent souvent dans l'exsudat en chaînes extrêmement longues, entourées d'une auréole, très manifeste.

2. WORONIN, *Centralblatt f. Bakteriologie* 1895.

3. WÉRIGO, Développement du charbon chez le lapin. *Ces Annales*, janvier 1894.

repousse les leucocytes. Ceux-ci, malgré leurs mouvements si actifs, malgré les contacts incessamment répétés, n'arrivent pas à les englober.

Cet accroissement de la virulence du streptocoque doit être attribué à deux causes : d'abord à la nature chimique d'un milieu très approprié, l'exsudat ; cette influence est incontestable et se révèle même en ce que les microbes présentent bientôt un aspect particulier ; en second lieu, à la sélection opérée par les phagocytes ; ceux-ci englobent les microbes les plus attirants et laissent alors se reproduire en paix ceux qui ne jouissent que d'un pouvoir attractif plus faible ; la culture inoculée s'épure ainsi, dès le début, des individus les moins dangereux, les moins adaptés à la lutte. Cette manière de voir implique que les phagocytes, guidés par leur sensibilité chimiotaxique, peuvent choisir entre les divers microbes avec lesquels ils se trouvent en contact. Cette faculté de « faire un choix » peut être très nettement mise en relief par l'expérience de chimiotaxie que voici, et dans laquelle les phénomènes d'attraction d'une part, de répulsion d'autre part, sont en même temps très visibles :

Reprendons le cobaye injecté de streptocoque au moment où il est très malade, et où son exsudat péritonéal fourmille à la fois de microbes et de leucocytes (presque tous vides). Injectons-lui 1 c. c. d'une culture en bouillon d'un microbe peu virulent, le *Proteus vulgaris*. Au bout d'un temps très court, on constate que ces leucocytes qui refusaient énergiquement d'englober le streptocoque, se sont avidement emparés du microbe nouveau qu'on leur offre ; au bout d'une demi-heure, la totalité de la culture est à l'intérieur des phagocytes. Faisant preuve d'une grande délicatesse de sensibilité, les cellules distinguent fort bien l'une de l'autre les deux espèces de microbes ; elles absorbent chacune plusieurs bâtonnets de *Proteus*, mais elles continuent à refuser les streptocoques qui restent parsemés dans le liquide ambiant. Dans ces conditions, les leucocytes n'ont pas perdu du tout le pouvoir d'agir sur la substance des microbes englobés. Si l'on retire un peu d'exsudat, qu'on le laisse quelques heures en chambre humide, et qu'ensuite on en fasse des préparations colorées, on trouve que les leucocytes contiennent des bâtonnets presque tous colorés par l'éosine ; en dehors des

cellules se trouvent des streptocoques nombreux tous colorés en bleu.

On peut, au lieu d'injecter le *Proteus*, injecter un autre microbe tel que le bacille de Loeffler et obtenir les mêmes résultats. On peut aussi extraire de l'animal infecté de streptocoque un peu d'exsudat qu'on mélange avec une petite quantité de bactéries diphtériques: l'englobement de ce microbe, à l'exclusion complète du streptocoque, se produit alors *in vitro*. Cette culture de diphtérie peut être indifféremment jeune ou ancienne et très toxique: la toxine diphtérique n'entrave pas la phagocytose.

La rôle de la sélection par les phagocytes dans l'exaltation de la virulence par la méthode des passages, paraît être important. Mis en présence des microbes, les leucocytes, guidés par leur sensibilité chimiotaxique, englobent d'abord les individus microbiens qui les attirent le plus, c'est-à-dire les moins dangereux, et donnent ainsi, aux individus mieux armés pour la lutte, le temps de se reproduire tout en s'adaptant aux conditions d'existence où ils se trouvent, et de fournir une génération virulente, débarrassée des germes aptes à se laisser capturer facilement par les cellules¹. Le fait que les races virulentes d'un microbe attirent les leucocytes moins fortement que les races atténées, a été d'ailleurs bien établi, en particulier par les recherches de Massart². Ces phénomènes de sélection interviennent très probablement aussi dans les infections par associations microbiennes.

II. — Pouvoir bactéricide des phagocytes — Microbes éosinophiles. Granulations microbiennes.

Les leucocytes, guidés par leur sensibilité chimiotaxique, aidés par leur sensibilité au contact, peuvent englober les microbes. On sait depuis longtemps qu'ils peuvent les détruire. Mais il est important d'observer, avec de nouveaux détails, les alterations de forme, de colorabilité, que les microbes peuvent présenter, au bout d'un temps plus ou moins long, lorsqu'ils sont contenus dans le protoplasme phagocytaire. Certains

1. J. BORDET, Adaptation des virus aux organismes vaccinés. Ces *Annales*, mai 1892.

2. J. MASSART, Chimiotaxisme des leucocytes et immunité. Ces *Annales*, même fascicule.

microbes subissent facilement, ainsi que l'ont montré M. Pfeiffer, M. Dunbar, des modifications de forme lorsqu'ils se trouvent en présence des matières antiseptiques de l'organisme : de telles modifications sont surtout observables chez les animaux vaccinés. Si, comme nous avons cherché à le prouver antérieurement, le leucocyte est la source de la matière bactéricide, c'est dans son protoplasme, on peut le prévoir, que les microbes présenteront, autant qu'il est possible, les altérations dénotant l'action de ce principe nuisible. De là la nécessité de poursuivre l'examen des microbes devenus la proie des phagocytes.

Il existe un procédé très simple qui permet d'examiner à ce point de vue, en un temps assez court, un nombre suffisant de microorganismes. La phagocytose est susceptible de se produire, non seulement dans l'intérieur des organismes, mais encore *in vitro*. Il suffit de récolter chez un animal un peu d'xsudat riche en leucocytes, d'ajouter à cet xsudat un peu d'émulsion microbienne, de placer le mélange en chambre humide, à la température de 35° ou 37°, pour que la phagocytose s'accomplisse avec rapidité¹. Un moyen efficace d'obtenir un xsudat où les leu-

1. La phagocytose *in vitro* se produit très facilement et sans qu'il soit nécessaire de recourir à des précautions fort délicates. L'xsudat riche en globules peut être recueilli à une température assez basse : les mouvements des cellules réapparaissent très bien et la phagocytose s'exécute si on transporte à l'étuve cet xsudat mélangé à l'émulsion microbienne. Des changements sensibles dans la concentration saline du liquide où baignent les cellules n'empêchent pas l'engagement, pourvu qu'ils ne soient pas trop considérables.

Si l'on mélange l'xsudat avec partie égale de solution de NaCl à 2 0/0, la motilité persiste ainsi que la faculté d'ingérer les microbes. Si l'xsudat est mêlé à partie égale de solution de NaCl à 3 0/0, les mouvements sont abolis ; mais si, après un contact de 2 heures à 37°, on dilue sensiblement le liquide en lui ajoutant un volume à peu près égal de solution de NaCl à 0,60 0/0, chargée de microbes, on constate que bon nombre de phagocytes peuvent encore capturer les micro-organismes.

Lorsqu'on emploie, de la même manière, une solution de sel marin, non plus à 3 0/0, mais à 4 ou 5 0/0, on observe chez les globules blancs improprement appelés polynucléaires (amphophilcs) une curieuse modification : les différentes pièces qui composent le noyau se réunissent de façon à constituer un noyau compact, de forme arrondie; parfois la réunion n'est pas complète, et l'on trouve, au lieu du noyau fragmenté primitif, deux corps arrondis.

Les leucocytes à noyau fragmenté acquièrent ainsi, pour la plupart, l'apparence de leucocytes mono ou dinucléaires.

Quant au protoplasme, il reste normal.

Certaines substances, toxiques pour certaines cellules de l'organisme, paraissent n'avoir pas grande action sur les leucocytes. Si l'on mêle l'xsudat riche en globules, à des solutions (dans l'eau contenant 0,60 0/0 de NaCl) de chlorhydrate de morphine à 1 ou même 2 0/0, d'antipyrine à 1 ou 2 0/0, de chlorhydrate de cocaïne ou d'atropine à 1 : 500, et qu'après un contact de 2 à 3 heures on ajoute un peu d'émulsion de microbes, on constate que la phagocytose s'effectue, et l'on

cocytes abondent, consiste à injecter dans la cavité péritonéale d'un cobaye quelques centimètres cubes de bouillon peptonisé. Le lendemain, l'exsudation péritonéale renferme des globules blancs très nombreux, ainsi que l'a reconnu M. Issaeff¹. Cet exsudat est riche surtout en leucocytes pluri-nucléaires amphophiles ; il contient aussi quelques grands mononucléaires et parfois de rares éosinophiles vrais.

Nous laissons en général la gouttelette d'exsudat additionnée de microbes séjourner pendant quatre heures à l'étuve.

Durant cet intervalle, les microbes n'ont pas le temps de se développer outre mesure, tandis que la phagocytose et les altérations des microbes par les sécrétions leucocytaires peuvent en général se manifester d'une façon très visible. D'ailleurs, la phagocytose s'effectue rapidement ; au bout d'un quart d'heure, et même moins, de séjour à l'étuve, on peut déjà le constater.

Les préparations faites au moyen de l'exsudat additionné de

obtient des préparations où les leucocytes ont leur aspect normal, et ont manifesté envers les microbes leur action altérante habituelle. L'examen des cellules vivantes à 37° permet d'ailleurs de constater que les mouvements persistent malgré la présence de ces diverses substances ; toutefois, dans les solutions concentrées (mélanges avec la morphine ou l'antipyrine à 2/0/0), ces mouvements sont devenus moins actifs, tout en étant encore visibles. Les solutions de cocaïne, d'atropine à 1/0/0, mises de la même manière en présence des globules blancs, les immobilisent et donnent lieu à des lésions que la coloration révèle ; le noyau devient irrégulier, peu colorable, le protoplasme se teint en bleu et apparaît trouble.

Les solutions de quinine (chlorhydrate), même à faible dose, immobilisent rapidement les leucocytes ; l'exsudat, mis au contact d'un volume égal de solution de quinine à 1/0/0, ne contient plus que des leucocytes incapables d'opérer la phagocytose.

La toxine diphtérique n'a guère d'action sur les phagocytes. L'exsudat peut être mis en présence, pendant 3 ou 4 heures, avec un volume égal de toxine diphtérique active, sans que les leucocytes qu'il contient aient rien perdu de leurs propriétés phagocytaires vis-à-vis des microbes ultérieurement introduits. La toxine diphtérique ne manifeste pas d'action paralysante sur les cellules, pas plus dans l'organisme qu'*in vitro*. Si l'on injecte dans le péritoine d'un cobaye de la culture de diphtérie (culture abondante dans un mélange de bouillon et de sérum de lapin), l'animal meurt au bout de 24 heures. Une demi-heure après la mort, on lui retire un peu d'exsudat qu'on met en présence de streptocoques et qu'on porte à l'étuve ; la phagocytose se manifeste avec intensité.

Une toxine cholérique active (tant le cobaye à dose de 1/2 c. c. et même moins) qui nous a été obligamment fournie par M. Salimbeni, mélangée, à parties égales, avec l'exsudat leucocytaire, entrave, d'ailleurs incomplètement, les mouvements des leucocytes. Mais cette action empêche diminue notablement d'intensité si l'on a soin de neutraliser au préalable la réaction alcaline très forte que présente cette toxine ; il n'est donc pas certain que l'influence paralysante relative que l'on observe soit due en réalité au poison proprement dit que renferme le liquide toxique.

1. ISSAEFF, *Zeitschrift f. Hygiene*, t. XVI, 1894.

microbes sont fixées à l'acide picrique en solution aqueuse saturée, colorées ensuite par l'éosine (solution de 0^er, 50 d'éosine dans 100 grammes d'alcool à 60°), puis par le bleu de méthylène en solution aqueuse saturée¹. Les cultures employées sont des cultures jeunes, âgées de 24 heures environ. Les leucocytes proviennent de cobayes neufs, n'ayant subi aucune inoculation microbienne.

Voici la liste de quelques microbes que nous avons mis en présence des phagocytes, avec l'indication des phénomènes que nous avons pu observer.

Vibrio cholérique. — Les leucocytes ont englobé des vibrions nombreux. Les vibrions qui n'ont pas été englobés ont gardé intacte leur colorabilité; la forme également est restée normale, sauf pour quelques-uns qui se sont transformés en granules arrondis. Dans les leucocytes, cette transformation des vibrions en granules est extrêmement répandue. Ces granulations sont identiques à celles dont M. Pfeiffer a signalé la présence dans la cavité péritonéale des animaux vaccinés auxquels on a injecté le vibron. Dans les leucocytes, et là seulement, leurs caractères de coloration sont fréquemment changés. Elles se teignent en nuances variables, bleu, bleu pâle, rose pâle, rose vif; au lieu d'absorber leur colorant naturel, elles fixent souvent une couleur acide, l'éosine. On trouve parfois aussi, dans le leucocyte, des vibrions dont la forme n'a pas changé, mais qui prennent la teinte de l'éosine.

Bacterium coli, bacille d'Eberth, de Friedländer, choléra des poules, Hog-choléra, pyocyanique, microbe de M. Danysz (entérite des petits rongeurs). — Tous ces microbes se comportent d'une façon très analogue lorsqu'ils sont mis en présence de phagocytes; ces analogies existent aussi entre eux et le vibron cholérique. Les microbes non englobés conservent intacts leurs caractères de forme et de colorabilité. Parmi les microbes englobés, un grand nombre se transforment en granulations arrondies, généralement volumineuses, parfois ovales, et qui prennent des teintes variables, du bleu au rouge. D'autres microbes ingérés sont

1. Les divers échantillons de bleu de méthylène que l'on peut se procurer ne se prêtent pas tous à l'obtention de doubles colorations. Ils ne se comportent pas toujours de même: il en est qui enlèvent la teinte de l'éosine non seulement des granulations pseudo-éosinophiles, mais aussi des globules rouges et des granulations éosinophiles vraies.

restés normaux ; d'autres paraissent simplement dilatés, d'autres encore, normaux quant à leur forme, se colorent par l'éosine. La teinte des granulations est parfois tellement pâle, qu'il est malaisé de les distinguer.

Diphthérie. — Phagocytose très intense. La forme des microbes englobés reste remarquablement constante, même après un long contact avec le protoplasme phagocytaire, mais les caractères de colorabilité se modifient d'une manière frappante. Au bout de trois à quatre heures, les bacilles englobés se colorent pour la plupart en rouge vif et n'absorbent plus le bleu; un certain nombre d'entre eux cependant se colorent encore en bleu ou en violet. En dehors des leucocytes, le bacille (même après un contact de 48 heures)吸吸收 la couleur basique et conserve donc sa colorabilité normale. Les leucocytes mononucléaires ont une affinité très marquée pour le bacille diptérique, et les englobent en grand nombre. Toutefois les modifications de la colorabilité s'observent plus rarement chez les microbes englobés par les mononucléaires que chez ceux qui sont devenus la proie des microphages.

Proteus vulgaris. — La transformation, au sein du phagocyte, du *Proteus vulgaris* en « microbe éosinophile », est tout à fait typique. Au bout d'un quart d'heure de contact avec l'exsudat riche en leucocytes, on trouve déjà des microbes englobés qui ne fixent plus le bleu, mais absorbent l'éosine. Au bout de quelques heures de contact, la majorité des microbes ingérés se colore en rouge pur. Parfois ces microbes, colorés en rouge, sont légèrement dilatés. Les microbes dispersés dans le liquide ambiant ont leurs caractères normaux.

Streptocoque. — Nous employons un streptocoque très virulent; le microbe est cultivé dans un mélange de sérum de cheval et de bouillon. Mis en présence de leucocytes de cobaye neuf, le streptocoque est rapidement englobé; mais il résiste assez énergiquement à l'action modifiante du protoplasme. Au bout de cinq à six heures, la plupart des microbes englobés se colorent encore par le bleu de méthylène. Cependant on trouve quelques phagocytes renfermant des chaînettes streptococciques colorées en rouge; quelquefois 1 ou 2 des coccus composant la chaînette se teignent encore en bleu ou en violet.

Charbon. — La transformation dans les phagocytes de la bac-

téridie charbonneuse en microbe colorable par l'éosine est fréquente. On trouve parfois de longs bâtonnets colorés en bleu dans toute leur étendue, sauf au point où ils sont en contact avec le protoplasme d'un leucocyte. La forme du microbe ne subit pas de changement bien appréciable.

Les autres microbes, dont nous nous sommes encore occupé, peuvent aussi, à l'intérieur des phagocytes, se colorer par l'éosine. En dehors des cellules, ils restent normaux. Ce sont : le gono-coque, le staphylocoque, les *B. muscoïdes*, rouge de Kiel.

L'examen de ces résultats donne lieu à deux remarques principales. Voici la première : au bout d'un temps, variable d'ailleurs suivant la nature du microbe, on voit qu'un certain nombre des microorganismes contenus dans les phagocytes ne sont plus susceptibles de fixer leur colorant naturel. Ils se teignent alors par une couleur acide, l'éosine.

Ce n'est pas là, hâtons-nous de le dire, un fait nouveau. M. Metchnikoff, le premier, a vu des vibrios cholériques englobés qui fixaient l'éosine. Après lui, M. Cantacuzène¹ a constaté le même fait pour le *Vibrio Metchnikovi*. M. Mesnil² a fait des observations analogues pour la bactéridie charbonneuse. Nous complétons ces données en montrant que ce fait, loin d'être exceptionnel, peut se rencontrer chez les divers microbes essayés dans nos expériences. On est porté à admettre, en présence de la régularité avec laquelle ce phénomène se produit, qu'une partie tout au moins des granulations pseudoéosinophiles contenues dans les microphages est d'origine microbienne. Cette opinion, qui est celle de M. Metchnikoff, est parfaitement corroborée par les expériences ci-dessus indiquées. Ces granulations ne seraient en partie que des débris microbiens qui ont acquis, pour la couleur acide, une affinité particulière. Dans le cas surtout où les microbes englobés sont des coccus, on est frappé de la grande ressemblance que présentent, au bout d'un certain temps, les microbes devenus éosinophiles avec les granulations que les leucocytes possèdent dans les conditions habituelles.

Tous les microbes d'une même culture ne sont pas aptes à

1. CANTACUZÈNE, *Mode de destruction des vibrios cholériques dans l'organisme*, Paris, 1894.

2. MESNIL, Sur le mode de résistance des vertébrés inférieurs aux invasions microbiennes. (*Ces Annales*, mai 1895.)

présenter, avec la même facilité, le genre d'altération dont il s'agit. Injectons à un cobaye 3 c. c. de bouillon dans la cavité péritonéale; le lendemain, inoculons-lui, dans cette même région où les leucocytes sont devenus fort nombreux, 1 c. c. de culture en bouillon de *Proteus vulgaris* (la culture, âgée de 24 heures, est jeune et par conséquent aussi homogène que possible). La phagocytose est presque instantanée. Au bout de 12 minutes, on trouve déjà dans les phagocytes des microbes qui se teignent en rose. Au bout d'une heure, on ne trouve plus de microbes libres, et le nombre des microbes fixant l'éosine augmente progressivement. Et cependant, 12 heures après l'injection, quelques microbes encore persistent à se colorer en bleu. Les microbes virulents, ou habitués à vivre dans des milieux organiques tels que le sérum, ne se prêtent plus très facilement à subir le changement de colorabilité. Le microbe diphtérique dont nous nous sommes servi pour l'expérience citée plus haut avait été cultivé pendant longtemps dans le bouillon. A ce moment, il devenait, dans le phagocyte, rapidement apte à fixer l'éosine. Plus tard, ce microbe a subi plusieurs passages et a été cultivé dans un mélange de bouillon et de sérum de lapin. Dès lors, l'altération par les phagocytes se produisit beaucoup moins rapidement.

Pour ce qui concerne l'influence possible de l'âge des cultures, notons que les bacilles diphtériques provenant de vieilles cultures sont tout aussi aptes que les bacilles jeunes, à fixer l'éosine sous l'action des sécrétions leucocytaires.

La deuxième remarque que suggère l'examen des préparations a trait à la transformation, dans le protoplasme phagocytaire, de certains microbes en granulations arrondies (*vibron cholérique*, *coli*, Eberth, choléra des poules, hog-choléra, Friedlander, pyocyanique, microbe de M. Danysz). Le fait que, dans nos expériences, cette modification régressive ne se produit, en général, que dans l'intérieur des phagocytes, indique clairement la supériorité, au point de vue du pouvoir bactéricide, que possèdent ces cellules sur le milieu liquide où elles sont répandues.

Cette transformation en granules est, à n'en pas douter, due à une substance élaborée dans les cellules. Ce n'est cependant pas dans les leucocytes que ces granulations ont été, pour la première fois, étudiées et décrites. C'est dans l'xsudat péri-

tonal d'animaux immunisés soit par une série d'injections de culture, soit par le sérum préventif, que M. Pfeiffer¹ a signalé la métamorphose du vibrion cholérique en corps arrondis, sans reconnaître du reste le rôle des leucocytes dans la production de ce phénomène.

Plus tard, M. Pfeiffer et M. Dunbar² ont fait des observations analogues pour ce qui concerne les bacilles typhique, *coli*, pyocyanique... Les granulations que ces savants observent, même en dehors des cellules, dans l'exsudat des animaux solidement immunisés auxquels ils injectent ces microbes, se voient sur nos préparations *dans les leucocytes provenant d'animaux neufs*. On constate donc que les microbes (vibrion cholérique, B. typhique, *coli*, pyocyanique) reconnus susceptibles de se transformer en granulations même en dehors des cellules, chez les vaccinés, peuvent également subir, chez les animaux neufs, la même modification. Mais ils ne la présentent, quand on opère sur des animaux neufs, que là où la matière bactéricide est le plus concentrée, c'est-à-dire *dans le phagocyte*. — Ce fait confirme l'idée que la substance bactéricide des humeurs est d'origine phagocytaire.

La matière bactéricide qui siège dans les leucocytes de nos animaux neufs peut, il est vrai, lorsque l'on observe la phagocytose *in vitro*, se diffuser en partie dans le milieu ambiant. Mais en s'y diffusant, elle perd nécessairement de son énergie et ne produit plus alors, en dehors des cellules, qu'une métamorphose granuleuse limitée du microbe (vibrion cholérique) ou même, dans la plupart des cas, ne provoque aucune transformation extracellulaire (*coli*, typhique, Friedlauder, etc.). Mais si les leucocytes proviennent d'un animal immunisé contre le microbe soumis à l'expérience, ou bien encore si les leucocytes d'un animal neuf sont mis en présence du sérum préventif contre ce microbe, le pouvoir bactéricide, à l'égard de ce dernier, devient beaucoup plus énergique³.

La modification granuleuse des microorganismes se produit

1. PFEIFFER. *Zeitschrift für Hygiène*, t. XVIII, p. 4, 1894.

2. DUNBAR, Zum Stande des bakteriologischen Cholera Diagnose (*Deutsche medicinische Wochenschrift*, février 1895).

3. Nous avons exposé dans notre précédent article, pour ce qui concerne les vibrions, quelle est la cause présidant à cette augmentation du pouvoir bactéricide (concours de deux substances différentes : l'une, la substance préventive, propre aux vaccinés et spécifique; l'autre, la substance bactéricide, non spécifique, présente chez les animaux neufs comme chez les vaccinés).

alors, ainsi que l'ont vu MM. Pfeiffer, Dunbar, non plus seulement dans les cellules, où la matière bactéricide est la plus abondante, mais encore dans le liquide ambiant où elle s'est en partie répandue. C'est pourquoi M. Metchnikoff le premier a pu, pour le vibrion cholérique, observer, *in vitro*, la métamorphose extracellulaire (phénomène de Pfeiffer) en mélangeant une émulsion de vibrions additionnée de sérum préventif, avec des leucocytes extraits de la cavité péritonéale d'un cobaye neuf. C'est parce que le sérum contient, ainsi que nous l'avons montré, une certaine quantité de la substance bactéricide leucocytaire que nous avons pu constater *in vitro* la production du phénomène de Pfeiffer dans un mélange d'une trace de sérum préventif, d'émulsion de vibrions, et de sérum neuf, ou même simplement dans le mélange d'émulsion et de sérum préventif, à condition que celui-ci soit bien frais².

Puisque la matière qui détermine l'apparition des granules est une substance leucocytaire, on doit s'attendre à ce que les microbes inaptes à se changer en corps arrondis dans l'intérieur des leucocytes ne donnent pas lieu non plus à de pareilles transformations dans la partie liquide de l'exsudat, même si cet exsudat appartient à un animal immunisé par le sérum préventif spécifique. C'est en effet ce qui arrive. Quand on injecte dans le péritoine du cobaye des bacilles diphtériques mélangés à du sérum antidiptérique, on constate, quelque temps après, que les microbes non encore englobés gardent leur apparence et leur colorabilité normales. Au bout de deux heures environ, les leucocytes polynucléaires commencent à affluer en grand nombre, et la phagocytose se fait complètement. Dans les phagocytes on peut observer bientôt la modification éosinophilique du microbe, mais la forme du bacille reste très longtemps la même; dans l'exsudat, les microbes, jusqu'au moment où ils sont englobés, restent ce qu'ils étaient. Observations analogues si l'on injecte dans le péritoine d'un cobaye un mélange de culture tétanique et de sérum antitétanique très actif. Bientôt la phagocytose se fait et finit par être complète. Tant qu'il reste encore des microbes libres, ces microbes gardent leurs caractères habituels. Dans les phagocytes, il ne se produit pas de gra-

2. Voir, pour les détails de ces deux expériences, le mémoire de M. Metchnikoff *Destruction extracellulaire des bactéries*, et le nôtre (juin 1895, ces Annales).

nulations : il se produit seulement un affaiblissement progressif bien évident de la colorabilité ; les bâtonnets prennent bientôt, par le bleu de Kuhne, une teinte verdâtre très pâle.

Cinq heures après l'injection, on ne distingue plus guère dans les leucocytes que les spores rondes et claires. Dans le mélange de sérum de cobaye neuf et de sérum antitétanique, les bacilles conservent absolument leur aspect normal, sauf qu'ils se réunissent en amas, phénomène sur lequel nous reviendrons plus tard.

On peut se demander si la substance phagocytaire qui agit sur les microbes de façon à les rendre éosinophiles est identique à celle, également phagocytaire, qui provoque leur transformation en granulations. Il est difficile d'en juger, puisqu'il s'agit de substances dont la nature chimique nous est complètement inconnue. Mais ces substances présentent, dans leur manière d'agir, des différences assez nettes. La transformation éosinophilique reste confinée au protoplasme leucocytaire. Si l'on mélange à des leucocytes d'animal neuf un peu d'émulsion de vibrions cholériques et de sérum préventif contre ce vibrio, ce n'est que dans les leucocytes qu'on rencontre des granulations colorables par l'éosine. La transformation en granules, dans ce cas, se produit au contraire très bien dans le liquide ambiant ; mais ces granulations extracellulaires continuent à se colorer, faiblement il est vrai, par le bleu de méthylène, même après un contact prolongé (30 heures) avec le liquide qui les baigne. De même, les granules cholériques produits aux dépens de vibrions plongés dans du sérum neuf additionné de sérum préventif, se colorent par le bleu et non par l'éosine. Tandis que la présence de sérum préventif favorise beaucoup la production de granules, le nombre relatif de microbes aptes à se colorer par l'éosine, dans les leucocytes, ne paraît pas plus grand en présence de ce sérum qu'en son absence (vibrio cholérique). L'intervention du sérum anti-diphétique ne paraît pas non plus favoriser sensiblement l'altération éosinophilique du bacille de Loeffler.

EXPLICATION DE LA PLANCHE I

- I. — Englobement *in vitro*, par les phagocytes, du bacille diphtérique. Les microbes ingérés se colorent soit par le bleu, soit par l'éosine. Les bacilles non absorbés se teignent tous en bleu. Le mélange d'ëxsudat et de culture est resté 3 h. 1/2 à 37°.
 - II. — Exsudat péritonéal de cobaye à qui on a injecté en premier lieu, dans le péritoine, des streptocoques virulents (0,5 c. c. de culture) qui, en se multipliant, ont produit des microbes à auréole, exerçant sur les leucocytes une chimiotaxie négative et ne se laissant pas englober. Ce cobaye a reçu ensuite, au moment où il est déjà très malade de l'infection streptococcique (6 à 7 heures) une injection intrapéritonéale de 1 c. c. de *Proteus vulgaris*; ce dernier microbe est rapidement englobé. L'ëxsudat a été retiré 1/2 heure après l'injection de *Proteus*, puis laissé quelques heures à froid en chambre humide avant d'être étalé sur lames. Les microbes *Proteus*, phagocytés, se colorent par l'éosine; les streptocoques, épars dans le liquide, par le bleu.
 - III. — a, b, c, d, e, f, g. Phagocytose *in vitro* du vibrion cholérique par des leucocytes d'animal neuf. Granulations et microbes intra-phagocytaires, prenant le bleu ou l'éosine.
 - IV. — Phagocytose *in vitro* du *hog-choléra*. Granulations arrondies, microbes éosinophiles (dans les leucocytes exclusivement). 4 heures d'étuve.
 - V. — Phagocytose *in vitro* du *bacillus coli*. Mêmes observations que pour le *hog-choléra*.
 - VI. — Phagocytose *in vitro* du streptocoque. Chainettes se colorant par l'éosine; quelques grains toutefois absorbent encore le bleu (6 h. à 37°).
 - VII. — Streptocoques en longues chaînes, à auréole, développés dans la cavité péritonéale d'un cobaye mort plusieurs jours après une injection intrapéritonéale de streptocoque.
-

REVUES ET ANALYSES

LE POUVOIR FERMENT ET L'ACTIVITÉ D'UNE LEVURE

REVUE CRITIQUE

La notion du *pouvoir ferment* que Pasteur a introduite dans la science semble avoir quelque peine à se faire place dans les esprits. Il est fréquent qu'on la confonde avec la notion de l'activité d'une levure, c'est-à-dire de la rapidité de la fermentation, et, jusque dans des mémoires récents, on pourrait relever traces de cette confusion. Peut-être ne sera-t-il pas inutile, avant d'entrer dans l'examen particulier d'aucun de ces mémoires, de revenir sur les différences et les ressemblances des deux notions qu'ils ne séparent pas. Je n'ai qu'à reprendre pour cela les enseignements épars dans ma *Microbiologie*, en leur donnant la forme condensée à laquelle m'ont conduit plusieurs années d'enseignement sur ce sujet.

Quand Pasteur a eu découvert que toutes les fermentations étaient produites par des êtres vivants, il a été tout de suite frappé de la disproportion qui existe entre le poids de la matière détruite par le ferment et le poids du ferment lui-même. Tandis qu'un homme, un chien, un oiseau ne consomment par jour qu'un poids de nourriture égal à $1/30$, à $1/25$, à $1/6$ au plus de leur poids, il y a des ferment qui transforment dix fois, cent fois leur poids de matière fermentescible. C'est à cause de cette disproportion, de la puissance de destruction qu'elle traduit, que les microbes peuvent suffire à la tâche qui leur incombe dans l'économie générale du monde. La notion de *pouvoir ferment* fait donc partie de leur histoire, lorsqu'on définit sous ce nom le rapport entre le poids de l'aliment transformé et le poids des cellules du microbe qui l'a détruit.

La notion de temps n'entre pas dans cette définition. Peut-être Pasteur eût-il bien fait de l'y introduire, et de dire que le pouvoir ferment est le rapport du poids de l'aliment transformé en 24 heures au poids du ferment. Il eût rendu ainsi la notion plus intelligible et l'eût fait plus facilement accepter. Mais, dans sa pensée, le mot *pouvoir ferment* correspondait à la notion mécanique du travail, dans la définition duquel le temps n'entre pas non plus. Pour éléver une tonne

d'une marchandise quelconque à une hauteur déterminée, il faut toujours le même travail, quelles que soient la nature de la marchandise et la durée de l'opération. De même, pour détruire un certain poids d'une matière fermentescible quelconque, et l'amener à n'être plus alimentaire pour le microbe qui la consomme, il faut dépenser un travail indépendant du temps consacré à cette œuvre, et lié à la nature et aux propriétés du microbe entré en action. Envisagé comme cause de destruction, le microbe est une source de force, quelque chose d'analogue à une grue qui permet d'élever un certain nombre de tonnes à une certaine hauteur. Qu'on mette cinq ou dix heures à faire ce travail, cela ne change rien à la puissance de la grue, à ce que Pasteur aurait pu appeler par analogie son *pouvoir élévateur*. Elle ne peut toujours qu'élever, dans chaque opération, un certain nombre de kilogrammes dépendant de ce qu'on appelle sa force, à une certaine hauteur maximum dépendant de la hauteur de sa poulie supérieure.

Pourtant Pasteur n'a jamais songé à faire du pouvoir ferment, ainsi défini, la caractéristique d'un ferment. Il a montré en effet lui-même que ce pouvoir ferment est variable avec les conditions de l'expérience. Par exemple, avec la levure de bière, il dépend, dans une large mesure, de la présence ou de l'absence de l'oxygène. Comme c'est là un des points vifs du débat, on me permettra d'insister un peu.

Semons une trace impondérable de levure dans un vase plat, contenant un liquide nutritif et sucré étalé sous une faible épaisseur et à température convenable : arrêtons l'expérience dès les premières heures, aussitôt que la levure aura formé au fond du vase une couche saisissable à la vue et appréciable à la balance. À ce moment, les globules de levure formés n'auront pas encore eu le temps de se gêner les unes les autres en se disputant l'oxygène dont ils ont tous besoin. Nous trouvons dans ces conditions que le poids de levure produite est environ le quart du poids du sucre disparu ; le pouvoir ferment de la levure est donc égal au nombre 4.

Laissons cette même expérience durer environ 48 heures, jusqu'au moment où tout le sucre aura disparu de la liqueur. L'épaisseur de la couche de levure sera plus forte, la gêne et privation d'oxygène plus grande. Le poids de levure aura augmenté, mais aussi et dans une proportion plus grande le poids du sucre disparu : le poids de levure ne sera plus que le 1/8 du poids du sucre, et le pouvoir ferment de la levure dans ces conditions deviendra égal à 8.

Au lieu de faire notre culture dans une cuvette plate, à la surface de laquelle l'air se renouvelle facilement, faisons-la dans un flacon à fond plat, où elle n'occupe qu'une faible hauteur, où elle a au-dessus d'elle un volume d'air, très grand par rapport au sien, mais limité.

Son aération continue sera plus difficile que tout à l'heure, d'abord parce que l'oxygène absorbé ne se renouvellera pas; puis parce que l'acide carbonique formé restera sous forme de couche à la surface du liquide dans ce vase clos et en repos. Cette fois le pouvoir ferment sera de 20 à 25.

Remplissons à moitié notre flacon, de façon à diminuer le volume de l'air et à augmenter le volume du liquide, du sucre, de la levure, c'est-à-dire celui des parties prenantes : le pouvoir ferment monte à 75.

Remplissons notre ballon totalement, de façon à ne laisser à la disposition de la levure que l'oxygène primitivement dissous dans le liquide sucré et nutritif. Le pouvoir ferment monte à 90.

Enfin arrangeons-nous pour que le liquide sucré soit à son tour privé d'oxygène au moment où nous y ensémençons la levure : le pouvoir ferment monte à 175 ou 200.

Réduite à ces termes très simples, la notion du pouvoir ferment ressort avec une netteté parfaite. Il est clair que le poids de sucre, dont un poids donné de levure peut provoquer la destruction, est d'autant plus grand que l'oxygène est plus rare ; c'est là une notion évidemment très importante au point de vue physiologique, et dont M. Pasteur a fait sortir toute une théorie de la fermentation. C'est aussi une notion importante au point de vue pratique. Le fabricant de levure, par exemple, qui vise à obtenir, aux dépens d'une même quantité de sucre, le plus de levure possible, devra évidemment se rapprocher des conditions dans lesquelles le pouvoir ferment est faible, et le poids de levure considérable par rapport au poids du sucre consommé. Il devra favoriser de son mieux l'intervention de l'oxygène. C'est le contraire que devra faire le brasseur qui vise, non à la production de la levure, mais à celle de l'alcool. Mais rien qu'en prononçant ce mot d'alcool, nous nous apercevons que nous n'avons pas tout dit dans l'exposé qui précède, et qu'il faut compliquer davantage la notion du pouvoir ferment, pour la mettre d'accord avec les faits.

Nous n'avons jamais en effet tablé que sur la quantité de sucre disparu, pour calculer notre pouvoir ferment. Nous n'avons pas tenu compte des transformations subies par ce sucre. Or, au contact de l'air, la plus grande partie de ce sucre est brûlée, totalement convertie en eau et en acide carbonique. Il n'y en a qu'une faible partie qui ait subi la fermentation alcoolique et qui soit représentée par environ la moitié de son poids d'alcool. Brûlé ou fermenté, il est devenu dans les deux cas inutilisable pour la levure; mais on peut prévoir tout de suite qu'elle aura à en consommer davantage lorsqu'elle le brûlera à moitié, et que, par suite, le mode de transformation, dont nous avions

fait bon marché dans l'étude et la définition du pouvoir ferment, ne saurait en être éliminé. Toutes choses égales d'ailleurs, le pouvoir ferment, tel que nous l'avons défini, doit s'élever à mesure que l'aliment est plus mal utilisé et qu'il y a plus d'alcool produit.

Or c'est quand il y a le moins d'air que l'alcool est proportionnellement le plus abondant, si bien que, dans notre dernière expérience, celle d'où nous nous sommes attachés à éliminer tout l'oxygène libre, il n'y a plus de sucre brûlé aux dépens des éléments de l'air, et tout le sucre qui disparaît subit la fermentation alcoolique qui est une combustion intérieure. L'augmentation notable du pouvoir ferment, que nous avons constatée dans cette expérience, est certainement en rapport avec ce fait. Et voilà que nous découvrons que notre pouvoir ferment, tel que nous l'avons défini, dépend non seulement de la *quantité* de transformation, mais de la *qualité* de cette transformation.

Ce n'est pas tout, il y a un autre élément que nous n'avons pas fait intervenir dans notre définition, mais qui, pourtant, s'introduit dans l'expérience : c'est le temps de l'action. Il a fallu 24 heures à la levure cultivée au large contact de l'air, pour faire disparaître quatre fois son poids de sucre. Il a fallu 3 mois ou 90 jours au même poids de levure cultivée à l'abri total de l'air, pour faire disparaître 175 fois son poids de sucre, ce qui revient à dire que, dans ce dernier cas, la levure ne transformait par jour que deux fois environ son poids de sucre. Malgré son pouvoir ferment plus grand, elle avait donc une activité plus faible. Et voilà précisément que se dresse devant nous cette contradiction que je visais en commençant cette Revue. En présence de l'oxygène, l'activité de la transformation est grande et le pouvoir ferment de la levure est faible ; en l'absence de l'oxygène, c'est l'inverse. Que vient donc faire dans l'espèce ce *pouvoir ferment* si bien défini mécaniquement, mais physiologiquement si complexe, et pratiquement si peu important ? se sont dit beaucoup de savants et encore davantage d'industriels. Ce qui nous frappe et nous intéresse, c'est l'activité du phénomène. Tant pis pour le pouvoir ferment s'il ne s'accorde pas à cette notion, ou s'il la contredit ! C'est la loi de la science que tout ce qui est inutile en disparaîsse.

II

Il est certain que la notion de l'*activité* d'une levure est à beaucoup d'égards plus simple que celle de son *pouvoir ferment*. Il y a entre ces deux notions le même rapport qu'entre la vitesse et l'espace parcouru. C'est ce qu'il est facile de montrer.

Appelons *activité* d'une levure la quantité de sucre que l'unité de poids de cette levure fait disparaître dans l'unité de temps, dans

les conditions de l'expérience, et admettons, pour simplifier, que cette activité soit constante durant toute la fermentation. La quantité de sucre que transformera pendant le temps t une quantité de levure l est évidemment alt , en appelant a l'activité de la levure telle que nous venons de la définir.

S'il s'agit d'une fermentation ensemencée avec une trace de levure et où la levure s'est multipliée pendant l'action, la quantité l de levure ne sera ni la quantité introduite comme semence ni la quantité trouvée à la fin. L'une serait trop petite, l'autre serait trop grande. C'est une quantité de levure intermédiaire, égale, comme je l'ai montré dans ma *Microbiologie* (p. 419), au tiers du poids de levure trouvé à la fin de l'expérience, lorsque la culture a eu à sa disposition tout l'oxygène dont elle a eu besoin. Le facteur serait un peu différent dans les cas de fermentations ordinaires, mais peu importe. Il existe toujours une quantité de levure telle, qu'agissant sous un poids constant d'un bout à l'autre de la fermentation, elle aurait produit, dans le même temps, le même effet que celui qu'ont produit les quantités variables de levure qui ont réellement agi. Ce sera cette quantité l de levure que nous introduirons dans nos calculs.

La quantité alt de sucre entré ainsi dans le mouvement vital de la cellule de levure ne représente pas la quantité totale de sucre S introduite dans le flacon de fermentation. Une partie de ce sucre a servi à fabriquer la quantité de levure l , et se trouve représentée dans ses matériaux de construction, conjointement avec une certaine quantité d'hydrogène et d'azote qu'on peut supposer avoir été empruntée à de l'ammoniaque, car M. Pasteur a montré qu'on pouvait obtenir une fermentation régulière dans un liquide où il n'y a que du sucre, des sels ammoniacaux, et des sels minéraux que nous laissons en dehors de notre exposé.

Quel est le poids de sucre qu'il a fallu pour fabriquer la quantité l de levure. Diverses considérations, dans le détail desquelles il est inutile d'entrer pour le moment, indiquent que ce poids de sucre est très voisin du poids l , et peut être représenté par ml , m étant un facteur très voisin de l'unité, de sorte qu'en ajoutant cette quantité ml au poids alt de sucre détruit par la levure, on a la totalité du sucre introduit dans le flacon.

$$S = ml + alt$$

Or, comme nous avons appelé pouvoir ferment de la levure le rapport $\frac{S}{l}$ on a, en appelant p ce pouvoir :

$$p = m + at.$$

On voit, en comparant cette formule à celle du mouvement uniforme en mécanique, que p est en quelque sorte un espace parcouru, et a une vitesse. D'une manière plus générale, on voit que le pouvoir ferment est quelque chose de plus complexe que a , et dépend à la fois de l'activité de la levure et du temps laissé à la fermentation pour s'accomplir.

Nous pouvons même nous faire une idée plus précise des deux termes de la somme entrant au second membre dans la valeur de S et dans celle de p .

Dans celle de S , par exemple, la quantité ml est la quantité de sucre qui a servi à former la levure; c'est ce que j'ai désigné dans ma *Microbiologie* sous le nom de *dépense de construction*. La quantité alt est la quantité de sucre transformée par la levure dans son fonctionnement, et dont l'équivalent se retrouve soit à l'état d'eau et d'acide carbonique, quand il y a eu combustion complète comme cela a lieu au libre contact de l'air, soit sous forme d'acide carbonique, d'alcool, de glycérine, d'acide succinique, etc., lorsqu'il y a eu fermentation véritable. Cette quantité alt est ce que j'ai appelé *dépense d'entretien*. La levure n'en a pas profité, sinon temporairement, et elle se retrouve à l'extérieur du globule de levure sous une forme désormais inassimilable pour lui : c'est sa dépense alimentaire, et a est sa ration alimentaire par jour, si on prend le jour pour unité de temps. Cette dépense augmente évidemment avec la durée de l'action, peut acquérir un niveau élevé si a est faible et t très grand, et c'est le cas des fermentations à l'abri de l'air, de même qu'elle peut rester petite si a est plus grand et t beaucoup plus petit, comme c'est le cas dans les cultures de levure au contact de l'air.

Nous retrouvons donc là une explication naturelle de la contradiction signalée au commencement de cette Revue ; mais nous pouvons pousser plus loin l'examen des phénomènes, et remarquer que l'augmentation du pouvoir ferment à l'abri de l'air ne dépend pas uniquement de l'augmentation de t . La quantité a représente, nous l'avons vu, la ration alimentaire de l'unité de poids de levure pendant 24 heures : c'est la quantité d'aliment dont elle a besoin pour son fonctionnement vital pendant ce temps. Nous ne savons pas ce qu'est, au fond, le mécanisme de ce fonctionnement, mais la facilité avec laquelle la levure passe par tous les degrés intermédiaires entre la vie aérobie et la vie anaérobiose indique qu'il ne doit y avoir guère de changements de l'un à l'autre, et comme, en vivant de sa vie anaérobiose, la levure utilise notamment beaucoup moins bien son aliment, puisqu'elle en laisse une moitié à l'état d'alcool, on peut conclure que, pour entretenir son mouvement vital, elle devra dépenser par 24 heures plus de

sucré à l'abri de l'air, en d'autres termes que sa ration alimentaire à l'abri de l'air devra être plus grande que sa ration au contact de l'air.

Mais il y a une autre cause qui produit un effet inverse, c'est l'action de l'oxygène. A son contact, l'activité protoplasmique est certainement plus grande. Que dans une fermentation anaérobiose, qui commence à se ralentir par suite de l'épuisement de la levure, on fasse arriver au contact du liquide une bulle imperceptible d'air ou d'oxygène, on verra le dégagement gazeux augmenter notablement. « Une fermentation est en marche : soutirez, même rapidement, le liquide et reversez-le aussitôt dans la cuve. Au bout d'une heure au plus vous constatez un accroissement marqué de la fermentation, accusé par un dégagement plus abondant d'acide carbonique... Les cellules qui ont subi le contact de l'air deviennent plus fermes d'aspect et de contour, leur plasma intérieur est plus nourri, plus jeune, plus translucide, moins vacuolaire. Les granulations moléculaires sont moins visibles... Le bourgeonnement recommence s'il était suspendu (Pasteur, *Études sur la bière*, p. 337). Bref, si la vie anaérobiose s'accompagne d'une augmentation de a à cause de la mauvaise utilisation de la matière alimentaire, la vie aérobie agit dans le même sens par suite de l'augmentation dans l'activité protoplasmique. L'appétit augmente, la ration alimentaire doit augmenter aussi.

Il faudrait des expériences spéciales pour mesurer a et m , expériences dans lesquelles tout demeureraient constant, nature du liquide sucré et de la levure, température, etc., tout, sauf le temps laissé à la transformation. Les expériences de Pasteur, que j'ai résumées en commençant, ne satisfont pas à ces conditions, n'ayant pas été faites pour être comparables à ce point de vue. On peut pourtant en tirer quelques indications générales sur la valeur de a et de m dans les cas d'aération parfaite et de suppression complète de l'air.

Dans le cas où la vie est surtout aérobie, nous avons vu que la valeur du pouvoir ferment, dans une culture de la levure arrêtée après 24 heures, était égale à 4. Si on prend la période de 24 heures pour unité de temps, on a dans ce cas $m + a = 4$, et on aurait pu trouver pour cette somme $m + a$ une valeur plus petite si on avait interrompu l'expérience plus tôt. Cela nous donne pour m et a des valeurs voisines de l'unité. Nous sommes sûrs d'avoir des valeurs par excès si nous prenons $a = 2$ et $m = 2$.

Prenons maintenant la fermentation très anaérobiose qui nous a donné pour p la valeur 176. Ici l'expérience a duré 3 mois, c'est-à-dire 90 jours : on a donc

$$176 = m + 90a$$

Ce qui, avec $m = 2$, nous donne $a = 1, 9$. Les deux valeurs de a , dans ces cas extrêmes, sont donc très voisines, ce qui ne veut pas dire qu'elles ne varieront pas beaucoup plus pour des mélanges convenables de la vie aérobie et anaérobie.

Dans la valeur de p

$$p = m + at$$

on voit que, lorsque le temps de la transformation est court, c'est-à-dire dans la vie aérobie, c'est la dépense de construction qui l'emporte. Si on pouvait n'introduire dans le liquide qu'une cellule, la peser au moment où elle aurait parachevé son premier bourgeon, et apprécier la quantité de sucre qu'elle a consommé pour cela, on trouverait peut-être que le premier bourgeon pèse le même poids que le sucre consommé pour le produire par le globule mère, et que par conséquent m est égal à l'unité. A ce moment, pour ce bourgeon, t est nul, puisque sa vie commence, et sa seule dépense est la dépense de construction.

Au contraire, dans une fermentation anaérobie qui *traine*, où il s'est produit peu de levure, c'est la dépense d'entretien qui l'emporte de beaucoup. Qu'est dans l'équation précédente,

$$176 = m + 90 a$$

la valeur de m , toujours voisine de l'unité, vis-à-vis du nombre 176 ? On peut presque en faire abstraction.

Comme ce sont là les conditions des fermentations ordinaires, nous pouvons tirer de ce qui précède une dernière conclusion. Nous ne savons pas quel est le signe thermochimique de la transformation de la quantité ml de sucre en la quantité l de levure ; en d'autres termes, nous ne savons pas si cette organisation de la levure aux dépens du sucre absorbe ou produit de la chaleur. De quelques nombres donnés par M. Berthelot (*Comptes rendus*, 3 février 1879), il semble qu'on puisse conclure qu'elle en absorbe. Mais on n'a aucune incertitude sur le signe thermochimique du terme qui correspond à la dépense d'entretien. Celui-ci produit nettement de la chaleur : beaucoup dans la vie aérobie, moins dans la vie anaérobie, pour une même dépense de sucre. Mais la réaction est toujours exothermique, et comme la quantité de sucre qui correspond à la dépense d'entretien est toujours de beaucoup supérieure à celle qui correspond à la dépense de construction, on voit qu'elle donne son signe thermochimique à l'ensemble.

Telles sont les notions principales que l'on peut faire ressortir de

notre conception des phénomènes présentés par le globule de levure. Il nous resterait à les appliquer à l'examen et à la critique des travaux publiés au sujet du pouvoir ferment ou de l'énergie spécifique des levures dans les fermentations. Ce sera l'objet d'une prochaine Revue.

E. DUCLAUX.

Dr SIGMUND FRAENKEL, La thyroantitoxine, partie physiologiquement essentielle de la glande thyroïde, *Wiener med. Blätter*, t. XVIII, 1895.

On ne compte plus les essais thérapeutiques faits avec les sucs organiques naturels, tirés naturellement ou artificiellement de certains organes ou de certaines glandes, capsules surrénales, reins, pancréas, moelle, glande thyroïde, testicules, etc. La plupart des maladies auxquelles on applique ces médications sont mal définies, et les tentatives faites sont par là très empiriques et peuvent être très illusoires. Il y aurait deux voies principales pour arriver à mettre plus de précision dans la recherche. La première serait de faire une étude plus soigneuse des maladies, de façon à n'être plus exposé à les confondre. Cette voie est longue et reste sur le domaine médical. La seconde empiète sur le domaine du chimiste. Elle consiste à faire pour ces sucs l'analogue de ce que l'on a fait pour les extraits végétaux de quinquina ou de noix vomique, par exemple, à chercher à en séparer les matières actives, dont l'action sur l'organisme est plus simple, plus facile à doser et à étudier lorsqu'elles sont séparées du mélange dans lequel la nature les a enfermées.

Malheureusement, cette étude chimique des liquides organiques débute à peine. Comme elle est très difficile, les chimistes l'ont un peu délaissée, et c'est seulement dans ces dernières années qu'ils se sont remis à l'étudier à cause de ses promesses thérapeutiques. M. le Dr S. Fraenkel vient de publier au sujet de l'étude du suc de la thyroïde un travail dont il ne cherche pas à dissimuler les lacunes, mais qui mérite pourtant l'attention des chimistes et des médecins.

De quelle nature est la substance active du corps thyroïde? Empor-tés par le courant actuel, les savants qui ont étudié cette question ont mis en avant les mots de ferments solubles, d'enzymes, de globulines, de nucléoalbumines, etc. On retrouve là la phraséologie habituelle de la science sur les sujets où elle ne sait rien. Schaffer avait pourtant montré à Londres, et Roos à Fribourg, que l'extrait de thyroïde ne perd aucune de ses propriétés quand on le fait bouillir, ou quand on le met en contact avec de l'acide chlorhydrique ou de la soude. Cela

mettait hors de cause les substances énumérées plus haut, mais ne nous disait pas la nature de la substance active. C'est sur ce point que M. S. Fraenkel a fait une étude méthodique.

Il a fait des extraits, à froid et à chaud, de thyroïdes de mouton, et en a séparé, au moyen de l'acide acétique, la presque totalité des matières albuminoïdes. Où s'était cantonné le principe actif? était-ce dans le précipité? était-ce dans le liquide filtré? Une expérience physiologique a montré que c'était dans ce dernier.

Le principe actif de la thyroïde n'est donc pas une substance albuminoïde; c'est une substance contenue dans le liquide filtré, soluble dans l'alcool, d'où on la précipite par l'éther ou l'acétone.

Cette substance a les propriétés d'un alcaloïde, mais M. Fraenkel ne se dissimule pas que son étude chimique reste encore à faire. En attendant, il lui a donné le nom conventionnel de *thyroantitoxine* pour le distinguer des autres produits commerciaux: thyroïdine, thyradène, extraits aussi de la thyroïde.

Il a rencontré constamment cette substance et en proportions sensibles, dans tous les extraits que par ailleurs il trouvait actifs. Mais cela ne lui a pas suffi. Il a voulu savoir si ce corps jouissait des propriétés actives de la thyroïde. Il a retrouvé avec lui la réaction signalée par Haskowetz, de Prague, à savoir la chute de la pression artérielle et une accélération du pouls à la suite de l'injection.

« Une expérience aussi intéressante, dit-il, pour le diagnostic physiologique de ma substance que pour la preuve de son identité avec le principe actif de la thyroïde est la suivante : un cœur de grenouille empoisonné par la muscarine, et qui est devenu immobile, recommence à battre quand on l'humecte avec une solution aqueuse de thyroantitoxine, ou montre des contractions à la plus légère excitation. »

Enfin les résultats qu'il a obtenus en injectant son thyroantitoxine à des chats thyroïdectomisés sont d'accord avec ceux qui ont été obtenus par M. Gley, avec le suc thyroïdien. La base préparée par M. le Dr S. Fraenkel semble donc bien être le principe actif de ce suc, et il n'y a pas à insister sur l'intérêt qu'il pourrait y avoir à opérer avec cette substance, au lieu de se servir du suc thyroïdien, toujours plus complexe et de composition plus incertaine. Un chimiste qui nous donnerait le moyen de remplacer de même la malléine et la tuberculine par leurs principes actifs rendrait un grand service à la science.

Dx.

Le Gérant : G. MASSON.